

Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi Rehberi

Bölüm R.7c: 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.7c: 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.7c: 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 süreçleri ile 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.

Yeni rehberler tamamlandıklarında veya güncellendiklerinde internet sitesinde yayınlanacaktır.

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

BELGENİN TARİHÇESİ

Versiyon	Değişiklikler	Tarih
Versiyon 1	İlk baskı	Temmuz 2008
Versiyon 1.1	Düzeltilme: (i) SAE referanslarının SEA referansları ile değiştirilmesi (ii) diğer küçük içerik değişiklikleri/düzeltilmeleri.	Kasım 2012
Versiyon 2.0	İkinci baskı. REACH Tüzüğü, Ek XIII'de (15 Mart 2011 tarihli (AB) 253/2011 sayılı Komisyon Yönetmeliğine göre, OJ L 69 7 16.3.2011) yapılan değişikliğin ardından BG ve KGD Rehberi'nin R.11 Bölümünün revize edilmiş versiyonunun (2.0) dikkate alınmasına ilişkin olarak bu belgenin kısmi revizyonu gerekli olmuştur. Rehber belgedeki ana değişiklikler aşağıdakileri içermektedir: <ul style="list-style-type: none">Güncellenen Bölüm R.11'e referanslar eklenmiştir ve ilgili metin güncellenmiştir;Belge, ECHA yeni kurumsal kimliğine yeniden biçimlendirilmiştir.	Kasım 2014
	Bölüm R.11'in güncellenmiş sürümünü dikkate almak için PBT/vPvB yönünden belgenin kısmi revizyonu. Rehber belgedeki ana değişiklikler aşağıdakileri içermektedir: <ul style="list-style-type: none">Sucul biyobirikimle ilgili R.7.10.1 ila R.7.10.8 Bölümlerinde güncelleme;Karasal biyobirikimle ilgili R.7.10.8 ila R.7.10.14 Bölümlerinde güncelleme;Biyobirikim değerlendirmesinde memeli toksikokinetik verileri üzerine Yeni Bölüm R.7.10.15;Bölüm R.11'in revize edilmiş bölümlerine yönelik çapraz referansların ve bağlantıların güncellenmesi.	

KKDİK Yönetmeliğinden alıntı yapılması için kurallar

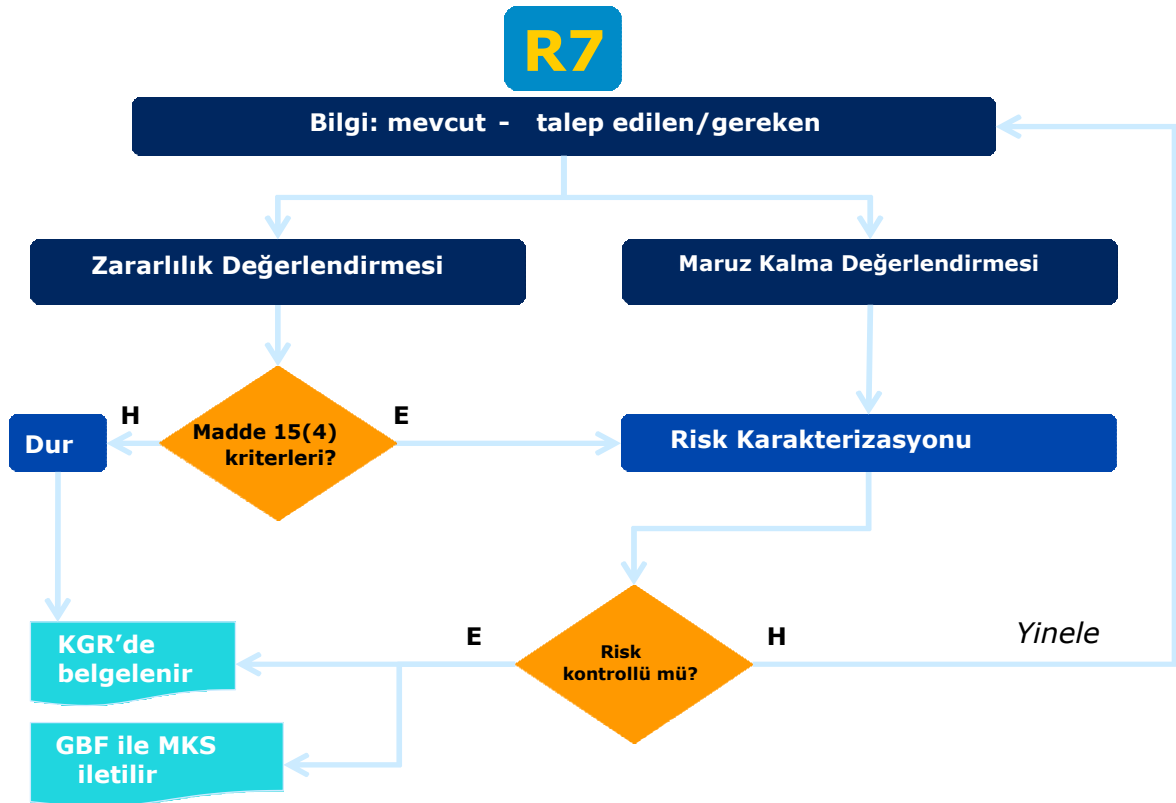
KKDİK yönetmeliğinden birebir olarak alıntı yapılması halinde, tırnak işareti içinde *italik* olarak belirtilir.

Terimler ve Kısaltmalar Tablosu

Bölüm R.20'ye bakınız.

Yol gösterici

Aşağıdaki şekil Bölüm R.7(c)'nin Rehber Doküman içerisindeki yerini göstermektedir



İçindekiler

R.7.10	Biyokonsantrasyon ve biyobirikim; kuşlar için uzun süreli toksisite	10
R.7.10.1	Sucul biyobirikim	10
R.7.10.1.1	Sucul biyobirikim tanımları	10
R.7.10.1.2	Sucul biyobirikim rehberinin amacı	12
R.7.10.2	Sucul biyobirikim için bilgi gereklilikleri	12
R.7.10.3	Sucul biyobirikim hakkında mevcut bilgiler	12
R.7.10.3.1	Sucul biyobirikim üzerine laboratuvar verileri	13
R.7.10.3.2	Sucul biyobirikim hakkında test dışı veriler	21
R.7.10.3.3	Sucul biyobirikim üzerine saha verileri	26
R.7.10.3.4	Biyobirikim potansiyelinin diğer göstergeleri	28
R.7.10.4	Sucul biyobirikim ile ilgili mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	31
R.7.10.4.1	Sucul biyobirikim üzerine laboratuvar verileri	31
R.7.10.4.2	Sucul biyobirikim hakkında test dışı veriler	40
R.7.10.4.3	Sucul biyobirikim üzerine saha verileri	43
R.7.10.4.4	Biyobirikim potansiyelinin diğer göstergeleri	45
R.7.10.4.5	Sucul biyobirikim için maruz kalma hususları	45
R.7.10.4.6	Sucul biyobirikim için kalan belirsizlik	46
R.7.10.5	Sucul biyobirikim için sonuçlar	48
R.7.10.5.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	53
R.7.10.5.2	PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	53
R.7.10.5.3	Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım için uygunluğa ilişkin sonuç	53
R.7.10.6	Sucul biyobirikim için Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)	54
R.7.10.6.1	Amaç / Genel ilkeler	54
R.7.10.6.2	Ön hususlar	54
R.7.10.6.3	Sucul biyobirikim için test stratejisi	55
R.7.10.7	Sucul biyobirikim için referanslar	57
R.7.10.8	Karasal Biyobirikim	72
R.7.10.8.1	Karasal biyobirikim için kullanılan tanımlar ve ölçümler	72
R.7.10.8.2	Karasal biyobirikim hakkında rehberin amacı	73
R.7.10.9	Karasal biyobirikim üzerine bilgi gereklilikleri	73
R.7.10.10	Karasal biyobirikim üzerine mevcut bilgiler	74
R.7.10.11	Karasal biyobirikim üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	77
R.7.10.11.1	Saha verileri	80
R.7.10.11.2	Karasal biyobirikim için maruz kalma hususları	80
R.7.10.12	Karasal biyobirikim için varılan sonuçlar	80
R.7.10.12.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	82
R.7.10.12.2	PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	82
R.7.10.12.3	Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım için uygunluğa ilişkin sonuç	82
R.7.10.13	Karasal biyobirikim için bütünleşik test stratejisi (BTS)	82
R.7.10.13.1	Amaç / Genel ilkeler	82
R.7.10.13.2	Ön hususlar	82
R.7.10.13.3	Karasal biyobirikim için test stratejisi	83
R.7.10.14	Karasal biyobirikim için referanslar	83

R.7.10.15	Biyobirikim değerlendirmesinde memeli toksikokinetik verileri	86
R.7.10.16	Kuş Toksikitesi	88
R.7.10.16.1	Kuş toksisitesi tanımı	88
R.7.10.16.2	Kuş toksisitesi hakkında rehberin amacı	89
R.7.10.17	Kuş toksisitesi üzerine bilgi gereklilikleri	89
R.7.10.18	Kuş toksisitesi hakkında mevcut bilgiler	90
R.7.10.18.1	Kuş toksisitesi üzerine laboratuvar verileri	91
R.7.10.18.2	Kuş toksisitesi üzerine saha verileri	95
R.7.10.19	Kuş toksisitesi üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	96
R.7.10.19.1	Kuş toksisitesi üzerine laboratuvar verileri	96
R.7.10.19.2	Kuş toksisitesi üzerine saha verileri	98
R.7.10.19.3	Kuş toksisitesi için kalan belirsizlik	98
R.7.10.19.4	Kuş toksisitesi için maruz kalma hususları	99
R.7.10.20	Kuş toksisitesi için varılan sonuçlar	100
R.7.10.20.1	PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	100
R.7.10.20.2	Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım için uygunluğa ilişkin sonuç	100
R.7.10.21	Kuş toksisitesi için Bütünleşik Test Stratejisi	101
R.7.10.21.1	Amaç / Genel ilkeler	101
R.7.10.21.2	Ön hususlar	101
R.7.10.21.3	Kuş toksisitesi için test stratejisi	102
R.7.10.22	Kuş toksisitesi için referanslar	105
R.7.11	Karasal organizmalar üzerindeki etkiler	129
R.7.11.1	Giriş	129
R.7.11.1.1	Amaç	132
R.7.11.2	Bilgi gereklilikleri	132
R.7.11.2.1	Standart bilgi gereklilikleri	132
R.7.11.3	Bilgiler ve kaynakları	136
R.7.11.3.1	Laboratuvar verileri	136
R.7.11.3.2	(yarı-) Saha verileri	140
R.7.11.4	Belirli bir madde için mevcut bilgilerin değerlendirilmesi	141
R.7.11.4.1	Laboratuvar verilerinin değerlendirilmesi	142
R.7.11.4.2	Saha verileri veya model ekosistemler	146
R.7.11.4.3	Karasal toksisite için maruz kalma hususları	146
R.7.11.4.4	Kalan belirsizlik	146
R.7.11.5	"Karasal Organizmalar Üzerindeki Etkiler" ile ilgili sonuçlar	147
R.7.11.5.1	Sınıflandırma ve Etiketleme için uygunluğa ilişkin sonuç	147
R.7.11.5.2	PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç	147
R.7.11.5.3	Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım için uygunluğa ilişkin sonuç	147
R.7.11.6	Karasal Organizmalar Üzerindeki Etkiler için Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)	154
R.7.11.6.1	Amaç / Genel ilkeler	154
R.7.11.6.2	Ön hususlar	155
R.7.11.6.3	Test stratejisi	155
R.7.11.7	Referanslar	160
R.7.12	Toksikokinetik hakkında rehber	175

R.7.12.1	Bilinmesi gereken açık bilgiler	175
R.7.12.1.1	Emilim.....	176
R.7.12.1.2	Dağılım	176
R.7.12.1.3	Metabolizma veya Biyodönüşüm	177
R.7.12.1.4	Boşaltım	177
R.7.12.1.5	Biyoyararlanım, doygunluk karşısında doğrusal olmama ve Birikim	178
R.7.12.2	Uygulamalarda TK - bilgi türetme ve oluşturma	179
R.7.12.2.1	Temel Veri Setini dikkate alarak TK bilgilerinin türetilmesi.....	180
R.7.12.2.2	TK bilgilerinin oluşturulması ve birleştirilmesi	193
R.7.12.2.3	Değerlendirmeyi iyileştirmek için mevcut olduğunda insan verilerini dahil edilmesi	203
R.7.12.2.4	TK bilgileri kullanımının yararının gösterimi	203
R.7.12.3	Toksikokinetik üzerine rehber için referanslar	240
R.7.13	Test ve maruz kalmayla ilgili özel hususlar gerektiren maddeler	250
R.7.13.1	Metaller ve İnorganikler	250
R.7.13.2	Petrol Maddeleri	251
R.7.13.3	Bölüm R.7.13 için Referanslar	254

Şekiller

Şekil R.7.10—1	Sucul biyobirikim için BTS	56
Şekil R.7.10—2	Kuş toksisitesi için BTS	104
Şekil R.7.11—1	<i>Kanıt ağırlığı</i> yaklaşımı	151
Şekil R.7.11—2	Şema A: Genel risk değerlendirme şeması	156
Şekil R.7.11—3	Şema B: Bütünleşik test stratejisi (Ek 9 ve Ek 10 maddeleri)	157
Şekil R.7.12—1	RDT çalışmalarının tasarımında TK verilerinin kullanımı.....	204
Şekil R.7.12—2	Belirli dozlarda doğrusallıktan ayrılma	205
Şekil R.7.12—3	Madde metabolizması hakkında artan bilgilerin kullanılması	206
Şekil R.7.12—4	Deri emilimi yüzdesini ayarlamak için <i>in vitro</i> ve <i>in vivo</i> verilerin olası kullanımına genel bakış.	238
Şekil R.7.12—5	Operatör maruz kalması için risk değerlendirmesinde deri emilimi; kademeli bir yaklaşım	239
Şekil R.7.13—1	KKDİK kapsamında genel TTC şeması/kavramı	266

Tablolar

Tablo R.7.10—1	Sucul türlerde biyobirikimi tahmin etmek için uygun QSAR modelleri	21
Tablo R.7.10—2	Balık BCF değerlerini tahmin etmek için yaygın olarak kullanılan QSAR modelleri 41	
Tablo R.7.10—3	İkincil zehirlenme değerlendirmesi için organik maddeler için varsayılan BMF değerleri (PBT/vPvB değerlendirmesi için geçerli değildir)	47
Tablo R.7.10—4	Mevcut ve önerilen standartlaştırılmış kuş toksisitesi testlerinin özeti	93
Tablo R.7.10—5	Uzun süreli toksisite testleri için yorumlama sorunlarının özeti.....	97
Tablo R.7.10—6	Balık birincil hepatositleri ve S9 oranları (standartlaştırılmış yöntemler) ile yöntemlerin ve çalışmaların özeti.	111
Tablo R.7.10—7	Çeşitli test sistemlerinde <i>in vitro</i> çalışmaların özeti.....	113
Tablo R.7.11—1	Etki değerlendirmesinde dikkate alınacak başlıca toprak organizmaları grupları	131
Tablo R.7.11—2	Toprak zararlılık kategorileri ve tarama değerlendirmesi (Ek 9 ve 10'a göre standart bilgi gerekliliklerinden feragat için).....	158
Tablo R.7.11—3	Seçilmiş Toprak Test Metodolojileri	165
Tablo R.7.12—1	Oral / sindirim yolu emilimi ile ilgili verilerin yorumlanması	181
Tablo R.7.12—2	Solunum yoluyla emilim ile ilgili verilerin yorumlanması.....	184
Tablo R.7.12—3	Deri yoluyla emilim ile ilgili verilerin yorumlanması	186
Tablo R.7.12—4	Dağılımla ilgili verilerin yorumlanması	189
Tablo R.7.12—5	Birikimle ilgili verilerin yorumlanması	190
Tablo R.7.12—6	Boşaltım ilgili verilerin yorumlanması	192
Tablo R.7.12—7	Farklı türler için mide pH seviyesine ilişkin veriler	214
Tablo R.7.12—8	Bağırsak pH seviyesi ile ilgili veriler.....	215
Tablo R.7.12—9	Bağırsakta hesaplanan geçiş süreleri	215
Tablo R.7.12—10	Sıçan, insan ve maymunların üst solunum yollarına ilişkin fizyolojik parametrelerin karşılaştırılması	216

Tablo R.7.12—11	ABD EPA (1997) kaynağından önerilen değerlerin özeti	216
Tablo R.7.12—12	Vücut ağırlığının yüzdesi olarak organ ağırlıkları	219
Tablo R.7.12—13	Farklı türler için kalp debisi (ml/dk).....	221
Tablo R.7.12—14	Farklı türlerde bölgesel kan akışı dağılımı.....	221
Tablo R.7.12—15	Farklı türlerde bölgesel kan akışı dağılımı.....	222
Tablo R.7.12—16	Organ hacimleri, PBK modellerinde kullanılan plazma akışı.....	223
Tablo R.7.12—17	Farklı türler için bir dizi fizyolojik parametre	224
Tablo R.7.12—18	Farklı türler için bir dizi fizyolojik parametre	225

Bölüm R.7c Ekleri

Ek R.7.10-1	Veritabanları	108
Ek R.7.10-2	Sucul biyobirikim için <i>in vitro</i> yöntemler	111
Ek R.7.10-3	Zor maddeler ile ilgili hususlar.....	119
Ek R.7.10-4	(Sürekli akış) balık biyobirikim çalışmasının veri güvenilirliği için kalite kriterleri	126
Ek R.7.11-1	Seçilmiş Toprak Test Metodolojileri	165
Ek R.7.12-1	Toksikokinetik - Fizyolojik Faktörler	214
Ek R.7.12-2	<i>În silico</i> ve <i>in vitro</i> oluşturulan bilgileri birleştiren toksikokinetik tahmini	226
Ek R.7.12-3	PBK Modellemesi ve Değerlendirme Faktörlerinin Geliştirilmesi	236
Ek R.7.12-4	Deri emilimi yüzdesi+	237
Ek R.7.13-1	Petrol Maddelerinin Çevresel Risk Değerlendirmesi için Teknik Rehber	256

Bölüm R.7 Ekleri (a, b ve c)

Ek R.7—1	Toksikolojik Endişe Eşik Değeri (TTC) - toksikolojik ve çevresel risk değerlendirmesinde bir kavram	263
----------	---	-----

Bölüm R.7 Ekleri

Ek R.7—2	R7c sonlanma noktaları için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir rehber.....	276
----------	---	-----

R.7.10 Biyokonsantrasyon ve biyobirikim; kuşlar için uzun süreli toksisite

R.7.10.1 Sucul biyobirikim

Sucul organizmalarda birikime ilişkin bilgiler, bir maddenin çevresel davranışını anlamak için hayati önem taşır ve belirli bir gereklilik olmasa bile tüm tedarik seviyelerinde ilgili bir husustur. Bilgi, zararlılık sınıflandırması ve PBT değerlendirmesi ile kimyasal güvenlik değerlendirmesi için yaban hayat ve insan besin zinciri maruz kalma modellemesi için kullanılır. Ayrıca uzun süreli ekotoksisite testinin gerekli olup olmayacağına karar vermede de kullanılan bir faktördür. Bunun nedeni, kimyasal birikimin, bir organizmadaki bir maddenin dahili konsantrasyonlarının, harici konsantrasyonlar çok küçük olduğunda bile uzun süreli maruz kalmalarda toksik etkilere neden olabilmesidir.

Yüksek düzeyde biyobirikim oluşturan maddeler de besin ağı yoluyla aktarılabilir ve bu da bazı durumlarda biyomagnifikasyona neden olabilir.

R.7.10.1.1 Sucul biyobirikim tanımları

Biyotadaki kimyasal birikimi tanımlamak için birkaç terim kullanılmıştır ve bunların biraz farklı tanımları (hepsi eşit geçerliliğe sahiptir) literatürde bulunabilir. Bu belgenin amaçları doğrultusunda aşağıdaki tanımlar kullanılmıştır:

Birikim, bir organizmadaki bir maddenin emilimi (alım), dağılımı, metabolizma ve boşaltımının (ADME) net sonucu için kullanılan genel bir terimdir. Bu süreçler, memeli toksikokinetiği rehber dokümanında ayrıntılı olarak tartışılmaktadır. Sucul organizmalarda, eliminasyon veya temizlenme olarak adlandırılan ana uzaklaştırma süreçleri, solunak yüzeyleri ve bağırsak duvarları boyunca yayılımla aktarım ve ana bileşikten daha kolay atılan metabolitlere biyodönüşümdür. Sucul biyobirikim süreçleri hakkında daha fazla tartışma, ECETOC (1996) ve Boethling ve Mackay (2000) gibi diğer referans kaynaklarda bulunabilir. Anneden yumurtalara aktarım, temizlenmeye katkıda bulunabilir ve bazen önemli olabilirken; büyüme, diğer boşaltım süreçlerinin hızının büyüme (seyrelme) oranıyla aynı büyüklükte olması durumunda bir organizmadaki konsantrasyonu etkileyebilir.

Biyokonsantrasyon, suda yaşayan bir organizma tarafından suda çözünmüş bir maddenin birikimini ifade eder. OECD Test Rehberi 305'in Ek 1'i BCF için tanımlar içermektedir. Kararlı hal *biyokonsantrasyon faktörü* (BCF_{ss}), bir organizmadaki bir maddenin konsantrasyonunun, kararlı hale ulaşıldığında sudaki konsantrasyona oranıdır:

$$BCF_{ss} = C_o/C_w$$

burada, BCF biyokonsantrasyon faktörüdür (L/kg)

C_o , tüm organizmadaki madde konsantrasyonudur (mg/kg, yağ ağırlık)

C_w , sudaki madde konsantrasyonudur (mg/L)

BCF'nin bu tanımında büyüme ve/veya standart bir lipid içeriği için düzeltmelerin hesaba katılmadığını lütfen unutmayın.

Kararlı hal biyokonsantrasyon faktörü (BCF_{ss}), uzun bir süre boyunca önemli ölçüde değişmez, test maddesinin ortamdaki konsantrasyonu bu süre boyunca sabittir.

Organizmanın homojen bir şekilde karışmış tek bir ortam halinde matematiksel olarak temsil edilebileceği (Sijm, 1991) ve birinci dereceden kinetiğin geçerli olduğu varsayılarak, BCF ayrıca alım ve temizlenme hız sabitlerinin oranı olarak kinetik (yani denge dışı) temelde de ifade edilebilir:

$$(Kinetik) BCF_k = k_1/k_2$$

burada k_1 , sudan alımın temizlenmesidir [hız sabiti] (L/kg/gün)

k_2 , eliminasyon hızı sabitidir (gün^{-1}).

İlke olarak, belirli bir madde için BCF_{ss} ve BCF_k değeri, karşılaştırılabilir olmalıdır, ancak kararlı hal belirsizse veya kinetik BCF değerine büyüme için düzeltmeler uygulanmışsa sapmalar meydana gelebilir.

Biyobirikim, su, yiyecek ve çökelti dahil tüm çevresel kaynaklardan alımı ifade eder. *Biyobirikim faktörü* (BAF) basitlik açısından bir organizmadaki madde konsantrasyonunun çevresel ortamdaki konsantrasyona (örn. doğal ekosistemlerdeki su) kararlı halde (denge) oranı olarak ifade edilebilir.

Çökeltide yaşayan canlılar için biyota-çökelti birikim faktörü BSAF, organizmadaki ve çökeltideki konsantrasyonların oranıdır. Bu, çökeltinin organik karbon oranı ve omurgasızdaki lipid oranının (f_{oc}/f_{lip}) bölümü ile çarpılarak normalize edilebilir, bu durumda terim normalleştirilmiş biyota-çökelti birikim faktörü olarak anılır. (BSAF).

Biyomagnifikasyon, besin zinciri aracılığıyla birikimi ifade eder. Bir besin zincirinde birbirini izleyen trofik seviyelerdeki organizmalarda bir maddenin (lipide göre ayarlanmış) iç konsantrasyonundaki artış olarak tanımlanabilir. Biyomagnifikasyon potansiyeli şu şekilde ifade edilebilir:

bir trofik seviye artışıyla organizmalarda konsantrasyon artışı olan *trofik magnifikasyon faktörü* (TMF) (Fisk ve ark., 2001); veya

yırtıcıdaki konsantrasyon ile avdaki konsantrasyonun oranı olan bir *biyomagnifikasyon faktörü* (BMF):

$$BMF = C_o/C_d$$

burada BMF biyomagnifikasyon faktörüdür (birimsiz)

C_o organizmada kararlı haldeki madde konsantrasyonudur (mg/kg)

C_d beslenmedeki kararlı haldeki madde konsantrasyonudur (mg/kg).

BMF değerleri avdan yırtıcıya konsantrasyonlardaki artışı tanımlarken, TMF değerleri trofik seviye başına konsantrasyondaki ortalama artışı tanımlar.

Trofik seyrelme, bir yırtıcıdaki bir maddenin konsantrasyonu avındakinden daha düşük olduğunda (daha yüksek metabolik kapasite ve daha yüksek trofik seviyeli türlerin artan bölümlendirmesi nedeniyle) meydana gelir.

İkincil zehirlenme, bir gıda zincirinin yüksek seviyedeki üyelerinde, biriken maddeleri (ve/veya ilgili metabolitleri) içeren daha düşük trofik seviyelerden organizmaların yutulmasından kaynaklanan toksik etkileri ifade eder.

Yukarıdaki denklemlerin hepsinde, organizmadaki konsantrasyon (kuru yerine) yaş ağırlık temelinde ifade edilmelidir. İlave olarak, bazı durumlarda lipid normalizasyonunu ve büyüme düzeltilmesini dikkate almak önemlidir ve bunlar Bölüm [R.7.10.4](#) ve [R.7.10.5](#)'te daha ayrıntılı olarak ele alınmaktadır.

R.7.10.1.2 Sucul biyobirikim rehberinin amacı

Bu belgenin amacı, kayıt ettirenlere sucul biyobirikimle ilgili tüm mevcut verilerin değerlendirilmesi konusunda rehberlik sağlamak ve daha fazla test ihtiyacına dair bir karar verilmesine olanak tanımaktır.

R.7.10.2 Sucul biyobirikim için bilgi gereklilikleri

KKDİK Ek 9, 100 ton/yıl veya üzeri miktarlarda imal veya ithal edilen maddeler için sucul türlerdeki - tercihen balık - biyobirikim hakkındaki bilgilerin gerekli olduğunu belirtir. Genel olarak, bu, bir balık biyokonsantrasyon faktörünün oluşturulması anlamına gelir, ancak bazı durumlarda biyomagnifikasyon faktörü de uygun olabilir.

Varsa güvenilir ölçülen veriler tercih edilir (bkz. Bölüm [R.7.10.5](#)), ancak KKDİK Yönetmeliği Ek 11 yeni bir omurgalı testi yapılmadan önce tüm tedarik seviyelerinde alternatif bilgilerin kullanımını teşvik eder. Tahmin teknikleri, birçok organik madde sınıfı için iyi geliştirilmiştir (bkz. Bölüm [R.7.10.3](#)) ve vekil bilgiler (örneğin, oktanol-su dağılım katsayısı veya K_{ow}) kendi başına veya *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının bir parçası olarak bazen yeterli olabilir. Gelecekte önemli alternatif veriler sağlayabilecek bir dizi yeni yöntem de geliştirilmektedir. Bunlar Bölüm [R.7.10.3](#)'te özetlenmiştir.

Biyobirikim; 100 ton/yıl değerinin altında belirlenen bir sonlanma noktası olmamasına rağmen, vekil bilgiler yine de ilgili olabilir (örn. zararlılık sınıflandırması ve PBT taraması için) ve bazı durumlarda daha ayrıntılı değerlendirme uygun olabilir (bkz. Bölüm [R.7.10.5](#)). Ayrıca, kayıt ettirenin KGD yürütürken ilgili mevcut bilgileri kullanarak PBT/vPvB değerlendirmesinde (i) ("Madde PBT ve vPvB kriterlerini karşılamamaktadır") veya (ii) ("Madde, PBT veya vPvB kriterlerini karşılamaktadır") şeklinde kesin bir sonuca varamaması durumunda, KKDİK Yönetmeliği, Ek 13, Bölüm 2.1 uyarınca, kayıt ettiren, tonaj bandından bağımsız olarak gerekli bilgileri üretmek zorundadır (daha fazla ayrıntı için bkz. *BG ve KGD Rehberi* Bölüm R.11). Böyle bir durumda, test gerçekleştirmekten veya diğer gerekli bilgileri oluşturmaktan kaçınmanın tek yolu, maddeyi "*PBT veya vPvB gibi*" ele almaktır (ayrıntılar için bkz. *BG ve KGD Rehberi* Bölüm R.11).

R.7.10.3 Sucul biyobirikim hakkında mevcut bilgiler

Aşağıdaki bölümler, laboratuvar testlerinden veya diğer kaynaklardan elde edilebilecek ilgili veri türlerini özetlemektedir.

Yöntemlerin çoğunun nötr (yani iyonlaşabilir olmayan) organik maddeler için geliştirildiği ve bazı kavramların diğer maddelere uygulanmasında sorunlar olabileceği unutulmamalıdır - daha fazla rehberlik Bölüm [R.7.10.4](#)'te verilmektedir.

Çok sayıda maddeye ilişkin bu tür bilgileri özetleyen birkaç veri tabanı mevcuttur ve en önemlileri [Ek R.7.10-1](#)'de açıklanmaktadır.

R.7.10.3.1 Sucul biyobirikim üzerine laboratuvar verileri

Sucul biyobirikim için *in vivo* testler

Balık biyokonsantrasyon testi

Geleneksel olarak, biyokonsantrasyon potansiyeli, balıkların suda çözünmüş maddeye maruz bırakıldığı laboratuvar deneyleri kullanılarak değerlendirilmiştir. Bir dizi standartlaştırılmış test rehberi mevcuttur. Mevcut C.13 yöntemi, Ekim 2012'de güncellenen ve aşağıda kısaca açıklanan OECD test rehberi 305, 1996 kaynağına dayanmaktadır. OECD TG 305 (1996) yöntemi ile eşdeğer olan C.13 Biyolojik Konsantrasyon İç-Akış Balık Testi; Maddelerin ve Karışımların Fizikokimyasal, Toksikolojik ve Ekotoksikolojik Özelliklerinin Belirlenmesinde Uygulanacak Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik'te (11.12.2013 tarihli ve 28848 ikinci mükerrer sayılı R.G.) de yer almaktadır. OECD Test Rehberi 305 (OECD, 2012a) en yaygın olarak kullanılan test rehberidir. ASTM E1022-94 (ASTM, 2003) ve genel taslak rehber OPPTS 850.1730 (ABD Çevre Koruma Ajansı, 1996a) gibi diğer rehberler çok benzerdir².

Revize edilmiş OECD Test Rehberi 305 (OECD, 2012a), farklı maruz kalma yöntemleri ve numune alma düzenleri ile aşağıdaki üç test için rehberlik sağlar:

- OECD Test Rehberi 305-I: Sulu Maruz Kalma Biyobirikim Balık Testi
- OECD Test Rehberi 305-II: Minimuma İndirgenmiş Sulu Maruz Kalma Balık Testi
- OECD Test Rehberi 305-III: Beslenme Yoluyla Maruz Kalma Biyobirikim Balık Testi

OECD Test Rehberi 305'in 1996'daki önceki sürümüne kıyasla revize edilmiş test rehberindeki ana değişiklikler şunlardır:

- Biyokonsantrasyon faktörünün (BCF) test konsantrasyonundan bağımsız olması muhtemel olduğunda, yalnızca bir test konsantrasyonunun test edilmesi yeterli kabul edilebilir.
- Özel kriterler karşılanırsa, azaltılmış sayıda numune noktasının mümkün olduğu minimuma indirgenmiş bir sulu maruz kalma testi tasarımı mümkündür.
- Balık lipid içeriği ölçülmelidir, böylelikle BCF lipid normalize bir temelde ifade edilebilir ve diğer çalışmalarla karşılaştırmaya olanak sağlamak için %5 lipid içeriğine normalize edilebilir.
- Kararlı halde BCF değerini tahmin etmenin yanında kinetik BCF tahminine (mümkün olduğunda) daha fazla vurgu yapılır.

² Temel farklılıklar şunlarla ilgilidir: (a) test suyu sağlama yöntemi (statik, yarı statik veya sürekli akış); (b) bir temizleme çalışması yürütme gerekliliği; (c) BCF değerini hesaplamak için matematiksel yöntem; (d) numune alma sıklığı; (e) sudaki ölçümlerin sayısı ve balık numunelerinin sayısı; (f) balığın lipid içeriğinin ölçülmesinin gerekliliği; ve (g) alım aşamasının minimum süresi.

- Belirli madde grupları için, sulu maruz kalma testinden daha uygun olduğu düşünülen beslenme yoluyla maruz kalma testi önerilecektir.
- BCF_k değerinin büyümeyle seyrelme için düzeltilebilmesi amacıyla balık ağırlığı en azından çalışmanın başında ve sonunda ölçülmelidir.

İlke olarak, yeterli sayıda balık, suda çözünmüş test maddesinin öldürücü dozun altındaki bir veya iki konsantrasyonuna maruz bırakılır. Hem balıktan hem de sudan düzenli zaman aralıklarında numune alınır ve test maddesinin konsantrasyonu ölçülür. Testler genellikle bir sürekli akış sistemi kullanılarak gerçekleştirilir, ancak sabit sulu konsantrasyon gerekliliği karşılanırsa bir yenileme sistemine izin verilir (hidrofobik maddeler için sürekli akış yöntemleri tercih edilir (yani, $\log K_{ow} > 3$)). Belirgin bir kararlı hal konsantrasyonuna ulaştıktan sonra (veya 28 gün sonra, hangisi daha erken ise), geriye kalan balıklar temiz suya aktarılır ve temizleme işlemi ile devam edilir³. 28 gün içinde kararlı hale ulaşılmazsa, BCF kinetik yaklaşım kullanılarak hesaplanır veya alım aşaması uzatılabilir. Alım ve temizlenme aşamalarının süresine ilişkin daha fazla rehberlik, OECD Test Rehberi 305'in 17. ve 18. paragraflarında yer almaktadır.

OECD Test Rehberi 305'in 49-51. Paragrafları, tek bir maruz kalma konsantrasyonunun kullanımının mümkün olduğu koşulları açıklar ve daha fazla rehberlik OECD (2017) içerisinde mevcuttur. Tek konsantrasyonlu biyokonsantrasyon testinin temel faydası, iki konsantrasyon testinden daha az balık kullanmasıdır. Bu nedenle, tek konsantrasyon testini gerçekleştiriminin hayvan refahı açısından faydaları vardır.

Sulu biyokonsantrasyon testinin amacı, sucul ortamdan (C_w) balığa (C_f) ne kadar maddenin birikim yapacağına dair güvenilir bir tahmin üretmektir, böylelikle kararlı halde C_f/C_w oranı kullanılarak bir biyokonsantrasyon faktörü (BCF_{ss}) hesaplanabilir. Bununla birlikte, bir BCF_k değeri tercih edilir ve aynı zamanda alım hız sabiti (k_1) ve temizlenme hızı sabiti (k_2) oranı olarak da hesaplanabilir. Revize edilmiş OECD Test Rehberi 305 (OECD, 2012a), büyüme düzeltmesi için bir prosedür içerir. Sulu maruz kalmayla ilgili rehber (yani OECD Test Rehberi 305-I ve 305-II) en geçerli şekilde $\log K_{ow}$ değerleri 1,5 ila 6 arasında olan maddelere uygulanır. Pratik deneyimler, maddenin suda çözünürlüğünün düşük olması durumunda (yani ~ 0.01 'den daha düşük bir değerle 0.1 mg/L aralığında), bu testin güvenilir bir BCF sağlamayabileceğini, çünkü maruz kalma konsantrasyonlarını korumanın çok zor olduğunu göstermektedir (Verhaar ve ark., 1999). Uçucu ve bozunabilir maddelerin de benzer nedenlerle bu yöntemle test edilmesi zordur. Bu durumlarda sürekli akış testinin kullanılma nedeni budur.

Önceki OECD Test Rehberi 305 (OECD, 1996)

1996 OECD rehberi, beş eski rehberi (A-E) (OECD, 1981) tek bir revize edilmiş yöntemde birleştirir.

³ Kararlı hal koşullarına ulaşmak için gereken süre, K_{ow} - k_2 ilişkilerine (örn. $\log k_2 = 1.47 - 0.41 \log K_{ow}$ (Spacie ve Hamelink, 1982) veya $\log k_2 = 1.69 - 0.53 \log K_{ow}$) göre ayarlanabilir. (Gobas ve ark., 1989)). %95 kararlı hale ulaşmak için gereken beklenen süre (gün cinsinden), biyokonsantrasyonun birinci derece kinetiği takip etmesi koşuluyla $-\ln(1-0.95)/k_2$ olarak hesaplanabilir.

Veriler bu önceki rehberlerden biriyle elde edilmişse, önemli farklılıklar olup olmadığını belirlemek için yöntem birleştirilmiş versiyonla karşılaştırılmalıdır (örneğin, 1996 ve 2012 OECD rehberleri artık dağıtıcı kullanılarak çözünürlüğün artırılmasını önermemektedir).

İlgili bir yaklaşım, bir statik maruz kalma test sisteminde bir test maddesinin sulu konsantrasyonlarındaki ölçülen düşüşün balıklarda birikmesinden (kütle dengesi olarak hesaplanan balık dokusu konsantrasyonlarındaki tahmini artış) kaynaklandığını varsayan *Banerjee yöntemi*dir (Banerjee, 1984). *Uyarlanmış Banerjee yöntemi* adı verilen bir uyarlama, balık konsantrasyonlarının izlenmesini de içerir (de Maagd, 1996).

Balık beslenme biyobirikim testi

Balık beslenme biyobirikim testi için halka testi yayınlanmıştır (OECD, 2012b). Balık beslenme maruz kalma testlerinde, yeterli sayıda balık, genellikle balık yemine eklenmiş test maddesinin öldürücülük düzeyi altındaki bir konsantrasyonuna maruz bırakılır. Hem balık hem de sudan düzenli zaman aralıklarında numune alınır ve test maddesinin konsantrasyonu ölçülür. Kimyasal eklenmiş gıdalardan veya dışkıdan herhangi bir şekilde yüze tutunmanın bir sonucu olarak test maddesinin su yoluyla potansiyel maruz kalmasını sınırlamak için bir sürekli akış sistemi kullanarak test yapılması önerilir. Ancak yarı statik koşullara da izin verilir. 7-14 günlük bir alım aşaması önerilir, ancak gerekirse uzatılabilir. Balıklar, alım aşamasında kararlı hale ulaşamayabileceğinden, veri işleme ve sonuçlar genellikle doku kalıntılarının kinetik analizine dayanır. Bu kararlı hal eksikliği, testte kullanılan herhangi bir referans madde için ölçülen BMF için de geçerli olabilir. Temizlenme aşaması, balıklar ilk kez kimyasal eklenmemiş gıda ile beslendiğinde başlar ve genellikle 28 güne kadar veya test maddesi artık bütün balıkta ölçülemeyene kadar (hangisi daha erken gerçekleşirse) sürer. Test maddesinin suya dağılımını ve dolayısıyla su yoluyla maruz kalmayı önlemek için yem beslemeden kısa bir süre sonra yenmemiş gıda ve dışkıları gidermek önemlidir.

Sulu konsantrasyonları güvenilir bir şekilde muhafaza etmenin ve ölçmenin mümkün olmadığı ve/veya potansiyel biyobirikimin ağırlıklı olarak yem yoluyla alımdan beklenebileceği maddeler için beslenme yoluyla maruz kalma testi (OECD Test Rehberi 305-III: Beslenme Yoluyla Maruz Kalma Biyobirikim Balık Testi) düşünülmelidir. OECD Test Rehberi 305'te belirtildiği gibi, güçlü hidrofobik maddeler için ($\log K_{ow} > 5$ ve suda çözünürlük $\sim 0.01-0.1$ mg/L altında), sulu maruz kalma yoluyla test gerçekleştirmek giderek zorlaşabilir. Bununla birlikte, yüksek bir $\log K_{ow}$ değerine sahip ancak mevcut analitik tekniklerin hassasiyeti açısından yine de kayda değer suda çözünürlüğü olan ve sulu konsantrasyonun korunması ile bu konsantrasyonların analizinin herhangi bir kısıtlama oluşturmadığı maddeler için bir sulu maruz kalma testi tercih edilir. Ayrıca, 60 gün içinde suya maruz kalma yoluyla beklenen balık konsantrasyonunun (vücut yükü) tespit sınırının altında olması bekleniyorsa, beslenme testi, madde için tespit sınırlarını aşan vücut yüklerine ulaşmak için bir seçenek sunabilir. Bu nedenle, beslenme testinin temel fikri, sulu maruz kalma yoluyla belirlenmesi imkansız olan maddeler için bir temizlenme hızı sabiti elde etmektir. Ancak, örneğin katı faz mikro özütleme (SPME) ve radyo-işaretli bir maddenin kullanımı gibi gelişmiş bir analitik teknik, sulu testte tespit sınırını iyileştirmek için ilk olarak değerlendirilebilir. Bir beslenme çalışmasının son noktası, kararlı halde avdaki (yani gıda) konsantrasyona göre yırtıcıdaki (yani balık) bir maddenin konsantrasyonu olan, beslenme biyomagnifikasyon faktörüdür (beslenme BMF). Beslenme testi ayrıca beslenmenin kimyasal emilim etkinliği ve tüm vücut eliminasyon hızı sabiti (k_2) ve yarılanma ömrü dahil olmak üzere değerli toksikokinetik veriler sağlar.

Balık beslenme biyobirikim testi ve bu testten elde edilen sonuçların PBT değerlendirmesinde kullanımı hakkında daha fazla bilgi [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.11 içerisinde bulunabilir. Bu çalışmaların yorumlanmasıyla ilgili daha fazla bilgi, Bölüm [R.7.10.4.1](#) ve OECD (2017) içerisinde mevcuttur.

Omurgasız testleri

Omurgasız birikim çalışmaları, yumuşakçalar da test edilebilmesine rağmen, genellikle çökeltide yaşayan türleri (annelitler (kara ve tatlı su solucangilleri) ve böcekler gibi) içerir. Balık beslenme testi gibi, çökeltiye kimyasal eklenmesi, az çözünen maddeler için maruz kalma sorunlarını ortadan kaldırır. Birkaç standartlaştırılmış rehber mevcuttur veya geliştirilmektedir.

OECD Test Rehberi 315 Çökeltide Yaşayan Bentik Solucangillerdeki Biyobirikim, omurgasızlarda biyobirikim bilgisi oluşturmak için tercih edilen yöntemdir. Önerilen solucangil türleri *Tubifex tubifex* (Tubificidae) ve *Lumbriculus variegatus*'tur (Lumbriculidae). *Branchiura sowerbyi* (Tubificidae) türü de belirtilmiştir, ancak bu belge oluşturulurken halka testlerinde doğrulanmadığı unutulmamalıdır. Biyota-çökelti birikim faktörü (kg yaş (veya kuru) çökelti·kg⁻¹ yaş (veya kuru) solucan olarak ifade edilir) ana ilgili sonuçtur ve kararlı hal biyobirikim faktörü BAF_{SS} veya kinetik biyota-çökelti birikim faktörü (BSAF_K) olarak rapor edilebilir. Her iki durumda da çökelti alım hızı sabiti k_s (kg yaş (veya kuru) çökelti·kg⁻¹ yaş (veya kuru) solucan gün⁻¹ olarak ifade edilir) ve eliminasyon hızı sabiti k_e (gün⁻¹ olarak ifade edilir) de raporlanmalıdır. Normalize biyota-çökelti birikim faktörü (BSAF), BSAF_K değerinin normalize edilmesiyle belirlenen lipid normalize kararlı hal faktörüdür ve yüksek düzeyde lipofilik maddeler için ek olarak rapor edilmelidir.

OECD Test Rehberi 315, yapay çökeltinin kullanılmasını önerir. Doğal çökelti kullanılıyorsa, çökelti özellikleri özel olarak raporlanmalıdır. Lipofilik maddeler için, BSAF değerleri genellikle çökeltinin organik karbon (OK) içeriğine göre değişir. Tipik olarak bir madde, daha yüksek bir organik karbon içeriğine kıyasla çökelti organik karbon içeriği düşük olduğunda, organizma için daha fazla yararlanım gösterecektir. Farklı organik madde içeriğine sahip en az iki doğal çökeltinin test edilmesi düşünülmelidir, organik maddenin özellikleri, özellikle siyah karbon içeriği rapor edilmelidir. Sonuçların farklı çökelti arasında karşılaştırılabilirliğini sağlamak için, sonuçların %2'lik standart bir organik karbon içeriğine dönüştürülmesiyle normalize edilmemiş bir BSAF değerinden normalleştirilmiş bir BSAF değeri türetilir. Bu değer, OECD çökelti toksisitesi testlerinde kullanılan standart yapay çökelti temel alınarak seçilir. Bu, aynı madde üzerinde yapılan testlerin ve farklı maddeler üzerindeki testlerin karşılaştırılabilir olmasını sağlar. Yükleme oranı mümkün olduğu kadar düşük ve beklenen toksisitenin çok altında olmalıdır, ancak çökelti ve organizmalardaki konsantrasyonların test boyunca tespit sınırının üzerinde olmasını sağlamak için yeterli olmalıdır. Test organizması için maddenin biyoyararlanımının önemi de dikkate alınmalıdır. (Normal) durumlarda, gözenek suyundan birikimin baskın olması beklendiğinde, biyobirikim, organizma ve çözünmüş gözenek suyu konsantrasyonları arasında bir BCF olarak ifade edilebilir.

ASTM E1022-94, sürekli akış tekniğini (ASTM, 2003) kullanarak tuzlu su çift kabuklu yumuşakçalarda biyokonsantrasyonu ölçmek için bir yöntem açıklar. Yumuşakçalar için yapılan değişikliklerle (boyut, muamele ve besleme rejimi gibi) OECD Test Rehberi 305'e benzer. Sonuç olarak benzer uygulanabilirliğe sahiptir. Sonuçlar, özellikle test malzemesinin insanlar tarafından yutulması önemli bir sorunsu, toplam yumuşak doku ve yenilebilir kısım olarak raporlanmalıdır. Organik ve organometalik maddelerle ilgili testler için dokunun lipid yüzdesi raporlanmalıdır. Önerilen türler Mavi Midye (*Mytilus edulis*), Deniz Tarağı (*Pecten spp.*) ve istiridyedir (*Crassostrea gigas* veya *C. virginica*). Benzer bir test OPPTS 850.1710 (ABD-EPA, 1996b) içerisinde açıklanmaktadır.

ASTM E1688-00a (ASTM, 2000), tatlı su amfipodları (*Diporeia sp.*), tatarcık larvaları (*Chironomus tentans*) ve mayıs sinekleri (*Hexagenia sp.*) dahil olmak üzere çeşitli organizmalar kullanılarak kimyasal eklenmiş çökelti içeren birkaç biyobirikim testini açıklamaktadır (bunlardan bazıları ayrıca ABD-EPA rehberleri kapsamındadır).

Bunların çoğu, belirli bir standart yöntemden ziyade başarılı çalışmalarda kullanılan tekniklere ve uzman görüşüne dayanmaktadır. Bu organizmaların çoğunun boyutunun küçük olması, bazen kimyasal analizler için çok sayıda kişinin gerekli olduğu anlamına gelir. Çökelti testi hakkında daha fazla faydalı bilgi ABD-EPA (2000a) içerisinde bulunabilir.

Ayrıca, bilimsel literatürde birçok türü içeren standart dışı testlerle karşılaşılabilir. Doku analizi yapılırsa, alımla ilgili bazı bilgiler çökelti organizma toksisitesi testlerinden de elde edilebilir. Bununla birlikte, alımı ölçmek için özel olarak tasarlanmış bir test tercih edilir.

Sucul biyobirikim üzerine *in vitro* veriler

İn vitro analiz verilerinden içsel hepatik temizlemeyi tahmin etmek için kullanılan prosedürler, ilk olarak ilaç sektörü tarafından ilaç adaylarının klinik öncesi taramasını desteklemek için geliştirilmiştir (Rodrigues, 1997). Bu prosedürler on yıllardır kullanılmaktadır (Rane ve ark., 1977) ve yöntemlerin iyileştirilmesi ve geniş bir madde yelpazesine uygulanmasında önemli ilerlemeler kaydedilmiştir (Riley ve ark., 2005; Halifax ve ark., 2010). Bu çalışmaların çoğu memeli (sıçan, fare, insan) doku hazırlamaları (karaciğer mikrozomları, birincil hepatositler ve karaciğer kesitleri) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Son on yılda, *in vitro* verilerden *in vivo* biyodönüşümü tahmin etmekle ilgilenen araştırmacılar, bu yöntemleri balıklarda kullanılmak üzere uyarlamıştır (Nichols ve ark., 2006).

Balık *in vitro* yöntemleri, biyobirikim değerlendirmeleri için önemli veriler sağlama potansiyeline sahiptir ve birçoğu canlı hayvanların kurban edilmesini gerektirse de, hayvan testlerinde bir azalma (veya iyileştirme) sağlayabilir. Metabolik kapasiteyi belirlemek için *in vitro* verileri kullanma yaklaşımları birkaç test sisteminde açıklanmış ve incelenmiştir. [Ek R.7.10-2](#) 'deki [Tablo R.7.10-6](#) , balık karaciğeri S9 bölümlerinin ve dondurularak korunmuş birincil hepatositlerin (ve uygulanabilir ekstrapolasyon modellerinin) kullanımına yönelik standartlaştırılmış yöntemlerin bir özetini ve bu yöntemleri değerlendiren ve bunları kullanarak biyobirikim üzerindeki biyodönüşüm etkilerini tahmin eden son yayınları sağlar. Bu tabloda açıkça görüldüğü gibi, balık karaciğeri S9 ve birincil hepatosit (hem taze hem de dondurularak korunmuş) yöntemleri iyi çalışılmış, karakterize edilmiş ve bir dizi test maddesi kullanılarak değerlendirilmiştir. Ancak, daha yüksek log Kow değerlerine (> 7-8) sahip maddeler üzerinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğu kabul edilmektedir. Bu yöntemlerin kullanımı, uygulaması ve uygulanabilirlik alanına ilişkin ek ayrıntılar ve rehberlik, geliştirilmekte olan iki Test Rehberine (OECD Projesi 3.13) eşlik edecek bir OECD Rehber Dokümanında ayrıntılı olarak tartışılacaktır.

[Ek R.7.10-2](#) içerisindeki [Tablo R.7.10-7](#), balıklarda madde biyodönüşümünü incelemek için kullanılan diğer *in vitro* test sistemlerinin bir özetini sağlar. Değerlendirilen test maddelerine ve türlere ilişkin özellikler dahil edilmiştir. Bu tablonun amacı, bu tür çalışmaların kapsamlı bir listesini sunmak değil, daha ziyade farklı test sistemleri aralığını göstermektir. Çoğu durumda, bu çalışmalardan elde edilen veriler, biyobirikim üzerindeki biyodönüşüm etkilerini tahmin etmek için kullanılmamıştır ve genel olarak bu yöntemler, karaciğer S9 ve birincil hepatosit yöntemleri kadar iyi geliştirilmemiştir. Bununla birlikte, uygun destekleyici bilgilerin (örn. ekstrapolasyon faktörleri ve kimyasal bağlanma algoritmaları) geliştirilmesi şartıyla, metabolik klirensin (temizlenmenin, atılımın) *in vivo* oranlarını tahmin etmek için bu sistemlerden bir veya daha fazlasını kullanmak mümkün olabilir.

Biyobirikim değerlendirmesi için *in vitro* verilerin kullanılması, ölçülen biyodönüşüm oranlarının *in vitrodan in vivo durumuna* ekstrapolasyon için bir strateji ve tahmini hepatik klirensin uygun hesaplama modellerine dahil edilmesini gerektirir (Nichols ve ark., 2006). *In vitro* analizler genellikle madde (substrat) tükenme yaklaşımı kullanılarak gerçekleştirilir, burada amaç biyolojik matrise eklenen bir test maddesinin (ana bileşik) kaybını ölçmektir. Bu bilgi daha sonra birkaç ekstrapolasyon faktörü kullanılarak tüm vücut biyodönüşüm hız sabitine (k_{MET}) dönüştürülür. Madde biyokonsantrasyonu için standart tek ortam modeline girdi olarak kullanıldığında, tahmini k_{MET} değeri, solungaçlar boyunca madde alımı için birinci dereceden bir hız sabiti (k_u) ve aynı zamanda tüm metabolik olmayan eliminasyon yolları için toplanan hız sabitiyle (k_{nb}) birleştirilir. Model daha sonra balıktaki madde konsantrasyonunu temsil etmek ve kararlı haldeki BCF değerini tahmin etmek için kullanılabilir. Bu yaklaşım, küçük (10 g) gökkuşağı alabalığı (*in vivo* OECD Test Rehberi 305 testi için kullanılanları temsil eder) için parametrelendirilmiş yayınlanmış bir ekstrapolasyon modeline (Nichols ve ark., 2013) bütünleştirilmiştir. *In vitrodan in vivo durumuna* ekstrapolasyon için standartlaştırılmış bir yaklaşım, biyobirikim değerlendirmesi için *in vitro* biyodönüşüm hızı verilerinin kullanılması ve uygulanmasında kritiktir.

Balıklar için çok ortamlı fizyolojik tabanlı farmakokinetik modeller de geliştirilmiştir ve karaciğer ve diğer dokular için *in vitro* biyodönüşüm verileriyle (örn., sindirim yolu, solungaç) parametrelendirilebilir. Bu daha karmaşık modeller, daha yüksek kademeli biyobirikim değerlendirmeleri için yararlı olabilir, ancak ilave model girdi parametreleri gereklidir (Nichols ve ark., 1990; Stadnicka ve ark., 2012; Stadnicka-Michalak ve ark., 2014). Bu tür modeller, birincil olarak beslenme yoluyla alınan maddeler üzerindeki biyodönüşüm etkilerini tahmin ederken de uygun olabilir (Nichols ve ark., 2007).

Balık karaciğeri S9 bölümü izolasyonu ve inkübasyonları (Johanning ve ark., 2012a) ve balık karaciğeri birincil hepatosit (dondurularak korunmuş) izolasyonu ve inkübasyonları (Fay ve ark., 2015a) için standart protokoller mevcuttur. Her iki metodolojinin geliştirilmesi ve standardizasyonu, daha önceki çoklu laboratuvar zincir araştırmalarının sonucudur (Fay ve ark., 2014a; Johanning ve ark., 2012b) ve iki yöntem OECD Test Rehberleri (OECD Projesi 3.13, OECD 2015) olarak önerilmiştir. Hem karaciğer S9 hem de dondurularak korunmuş birincil hepatosit yöntemleri şu anda çok laboratuvarlı bir OECD zincir araştırması aracılığıyla onaylanmaktadır (Embry ve ark., 2015; Fay ve ark., 2015b). Doğrulama, her çalışma için standart bir referans maddenin (piren) ve uygun negatif kontrollerin (örn., ısı işlem görmüş ve kofaktör içermeyen numuneler) kullanımını içerir.

[Ek R.7.10-2'deki Tablo R.7.10—6](#) içerisinde gösterilen çalışmaların bir kısmı balıklar için *in vitro* metabolizma verileri toplamış ve tüm vücut biyodönüşüm hızı sabiti k_{MET} değerini tahmin etmek için ek hesaplamalar yapmıştır. Bu hız daha sonra madde biyokonsantrasyonu için tahmin modellerine girdi olarak kullanılmıştır. Bugüne kadar bu çalışma, *in vitro* metabolizma verilerini kanıtlanmış biyokonsantrasyon modellerine dahil etmenin performanslarını önemli ölçüde artırdığını göstermiştir; tahmin edilen birikim seviyeleri ölçülen değerlere metabolizma olmadığı varsayılarak elde edilen tahminlerden çok daha yakındır (Han ve ark., 2007, 2009; Cowan-Ellsberry ve ark., 2008; Dyer ve ark., 2008; Gomez ve ark., 2010; Laue ve ark., 2014; Fay ve ark., 2014b).

Solungaç ve sindirim yolu dahil olmak üzere karaciğer dışındaki dokuları kullanan *in vitro* yöntemler, bu dokulardan türetilen hücre hatlarının kullanıldığı analizler gibi, gelişimin erken aşamalarında.

Bu karaciğer dışı sistemlerden elde edilen *in vitro* veriler, maddeler solungaçlarda veya bağırsakta metabolize edildiğinde veya beslenmeyle alım birincil maruz kalma yolu olduğunda özellikle önemli olabilir. Bu yöntemler, karaciğer S9 ve birincil hepatosit testleri kadar geniş bir şekilde kullanılsa da, daha da geliştirildiklerinde, standartlaştırıldıklarında ve onaylandıklarında biyobirikim değerlendirmesinde metabolizmanın rolünü de ele alabilecek umut verici yaklaşımlardır.

Farklı metabolize edici enzimlerin varlığının/yokluğunun ve aktivitelerinin türler arasında değiştiği ve balıklarla nicel ilişkilerin henüz kurulmadığı unutulmamalıdır. Dahası, ölçülebilir metabolizmanın varlığı, mutlaka riskte bir azalmaya karşılık gelmez. Genel olarak, biyodönüşüm ürünleri türetildikleri ana bileşikten daha hızlı elimine edilmesine rağmen, bu her zaman böyle değildir. Bu aynı zamanda *in vivo* gerçekleşen biyodönüşüm için de önemli bir husustur. Biyodönüşümün *in vitro* ölçümü ile ilgili teknik zorluklar, bu ürünlerin sınırlı çalışma ömrünü ve çok hidrofobik (yüksek log Kow) test maddelerinin kullanımıyla ilişkili zorlukları içerir. Karaciğer sferoidleri uzun süreler boyunca canlı kalır ve özellikle düşük klirensli (atılımı) bileşikler için çok uygun olabilir (Baron ve ark., 2012), ancak bu henüz belirlenmemiştir. Alternatif olarak, yerine kullanma yaklaşımı veya bir tür hepatik ortak kültür sistemi kullanarak mevcut S9 ve hepatosit testlerini kullanmak mümkün olabilir (Di ve ark., 2012; Hutzler ve ark., 2015). Lee ve ark. (2012, 2014), çok hidrofobik bileşikler için bir emici faz dozlamaya yaklaşımının kullanımını göstermiştir. Bu ve benzer yöntemler kullanılarak elde edilen sonuçların geleneksel çözücü dozlamaya prosedürleri kullanılarak ölçülen oranlarla karşılaştırılması için araştırmalara ihtiyaç vardır. Farklı *in vitro* sistemlerin kullanılabilirliğini ve karşılaştırılabilirliğini sağlamak ve karaciğer klirensinin (atılımının) bir belirleyicisi olarak kimyasal bağlanmanın (*in vitro* ve *in vivo*) rolünü netleştirmek için ek çalışmalar gereklidir.

Balık metabolizmasına ilişkin *in vitro* veriler standart bir KKDİK bilgi gerekliliği olmamasına rağmen, bu tür çalışmaların sonuçları biyobirikim değerlendirmesini destekleyebilir ve kanıt ağırlığı yaklaşımının bir parçası olarak düşünülebilir. *In vitro* balık metabolizması verilerini ölçülen balık BCF verileriyle karşılaştırırken, yalnızca aynı balık türlerine ait veriler karşılaştırılmalıdır. Şu anda, log Kow değerleri > 7-8 olan maddeler üzerinde *in vitro* balık metabolizması çalışmalarının gerçekleştirilmesi için daha fazla deneyime ihtiyaç vardır. Bu tür çalışmalar metabolizmaya atfedilebilen temizlenme oranını açıklamaya yardımcı olabilirken, bir maddenin yüksek vücut yüklerine ulaşamayacağı anlamına gelmez.

Biyomimetik teknikler

Biyomimetik (biyobenzetim) özütleme sistemleri, organizmaların sudan madde çıkarma şeklini taklit etmeye çalışır. Üç ana tür vardır:

- *yarı geçirgen zar cihazları* (SPMD), genellikle bir organik faz (örn. heksan, doğal lipidler veya model lipid triolein) içeren geçirgen bir zardan (örn. düşük yoğunluklu polietilen) yapılmış bir torba veya tüp şeklindedir (Södergren, 1987; Huckins ve ark., 1990). Yarı geçirgen zar cihazları, potansiyel olarak biyobirikim yapan maddeleri değerlendirmek için çıkış sularını (Södergren, 1987), kirlenmiş suları (Petty ve ark., 1998) ve çökeltileri (Booij ve ark., 1998) hayvan ikameleri olarak değerlendirmek için kullanılmıştır.
- kaynaşık bir silika lifi üzerinde ince bir polimer kaplamadan oluşan *katı faz mikro özütleme* (SPME) (Arthur ve Pawliszyn, 1990). Yüksek yüzey alanı/hacim oranına bağlı olarak dengeye saatler ile günler arasında ulaşılabilir (Arthur ve Pawliszyn, 1990; Vaes ve ark., 1996 ve 1997).

- suda küçük tek lamelli kesecikler oluşturan fosfolipidlerden hazırlanan *yapay zarlar* (Gobas ve ark., 1988; Dulfer ve Govers, 1995; Van Wezel ve ark. 1996; Vaes ve ark., 1997; Vaes ve ark., 1998a). Bu keseciklerin, doğal zarların lipid çift katmanlarına benzediği düşünülmektedir ve bunlar, başlıca toksisiteyi incelemek için kullanılmıştır (örneğin, Vaes ve ark., 1998b).

Her üç yöntem de, esas olarak maddenin hidrofobikliği ve moleküler boyutu ile ilgili olan dağılım katsayıları ile orantılı şekilde, su numunelerinden yalnızca serbestçe çözünmüş (yani biyoyararlanımlı) madde oranını özütleyecektir. Bu şekilde, suda yaşayan organizmaların, pasif yayılım yoluyla, depolama lipidlerine ve hücre zarlarına organik maddeleri biyolojik olarak konsantre etme potansiyelini taklit ederler. SPMD ve SPME kullanımı nispeten kolaydır. Organik fazın küçük boyutu nedeniyle, SPME yarı geçirgen zar cihazlarından çok daha kısa bir dengeleme süresine sahiptir ve nispeten küçük boyutlarda su numuneleri sulu fazı tüketmeden kullanılabilir. SPMD, alandaki biyobirikim potansiyelini, kirletici maddelerin dalgalanan konsantrasyonları ile birlikte uzun süreli maruz kalmadan değerlendirmek için SPME karşısında daha uygundur.

SPMD ve SPME gibi teknikler, balık veya omurgasızların metabolizmasını açıklayamaz. Belirli bir cihazla ölçülen dağılım katsayısının, uygun bir dönüşüm faktörü kullanılarak organizmalar için BCF değerine çevrilmesi gerektiğine de dikkat edilmelidir. Örneğin, bir dizi yazar çeşitli bileşikler için SPME dağılım katsayıları, log K_{ow} ve omurgasız BCF değerleri arasında ilişkiler kurmuştur (Verbruggen, 1999; Verbruggen ve ark., 2000; Leslie ve ark., 2002).

Biyomimetik özütleme, su fazında ayrılmayan organik maddelerin biyoyararlanımını ölçmek veya belirli bir sistemde zaman içindeki ortalama maruz kalmayı ölçmek için çok faydalıdır. Bununla birlikte, bu tür yöntemlerden elde edilen sonuçları biyobirikim bağlamında yorumlarken, aşağıdaki noktaların dikkate alınması gerekir:

- Oluşturulan veriler basit madde biyoyararlanımı ölçüleridir ve alım oranları organizmalardaki alım oranlarından farklı olacaktır. İkisi arasında çevirim için denklemlere ihtiyaç vardır. Bu nedenle, bir organizmaya potansiyel pasif yayılmayla alım ve lipide dağılımla bağlantılı olarak çoğu madde için maksimum BCF değeri sağlarlar.
- Balıkların maddeleri aktif olarak aktarma kapasitesini temsil etmezler veya bazı maddeler için önemli olabilecek diğer alım ve depolama yöntemlerini (örn. protein bağlama) taklit etmezler. Ayrıca metabolizma ve boşaltım gibi eliminasyon mekanizmalarını da ihmal ederler.
- Bazı cihaz türleri için su numuneleriyle dengeleme süresi çok uzun olabilir. Örneğin, Booij ve ark. (1998), 2 aydan daha kısa süre maruz kalan yarı geçirgen zar cihazlarının sonuçlarının dikkatle ele alınması gerektiğini öne sürmüştür.

Bu nedenle, biyokonsantrasyon olduğundan fazla (kolayca metabolize olan ve aktif olarak atılan maddeler için) ya da olduğundan az tahmin edilebilir (örneğin, zayıf bir şekilde metabolize olan bir maddenin aktif alımı durumunda veya biyobirikim lipofiliklik tarafından yönetilmediğinde). İlave olarak, biyomimetik yöntemler yalnızca kolay çözünen maddelerle dengeye ulaşabildiğinden, bağırsak yoluyla potansiyel alımı ele almak için kullanılamazlar. Bu nedenle biyobirikimin değerlendirilmesinde sınırlı faydaya sahiptirler.

R.7.10.3.2 Sucul biyobirikim hakkında test dışı veriler

Test dışı veriler aşağıdaki yaklaşımlarla sağlanabilir:

- Nicel yapı aktivite ilişkileri (QSAR);
- Uzman sistemleri; ve
- Gruplama yaklaşımları (çapraz okuma, yapı-aktivite ilişkileri (SAR) ve kimyasal kategoriler dahil).

Bu yöntemler, ilgili madde ile ilgili ve güvenilir veriler sağladıkları takdirde, biyobirikimin değerlendirilmesi için kullanılabilir.

(Q)SAR modelleri

SORUMLULUK REDDİ: Bu bölüm, bu belgenin ilk versiyonunun yayınlanmasından bu yana güncellenmediği için (Q)SAR modellerinin kullanımına ilişkin en son bilgileri içermemektedir.

Balık BCF değerlerini tahmin etmek için (Q)SAR modelleri, literatürde kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (örn. Boethling ve Mackay, 2000; Dearden, 2004; Pavan ve ark., 2006). ECHA [Uygulamalı Rehber 5: Nicel Yapı Aktivite İlişkileri nasıl kullanılır ve raporlanır](#) (Q)SAR tahminlerinin KKDİK kapsamında nasıl kullanılacağı ve raporlanacağı konusunda rehberlik sağlar. Uygulamalı Rehber ayrıca sucul türlerde biyobirikimi tahmin etmek için uygun QSAR modellerinin bir listesini de içerir ([Tablo R.7.10–1](#)):

Tablo R.7.10–1 Sucul türlerde biyobirikimi tahmin etmek için uygun QSAR modelleri

Yazılım aracı	Model/Modül	Ücretsiz veya Ticari
EPI Suite (ABD EPA)	BCF BAF	Ücretsiz
T.E.S.T. (ABD EPA)	Biyobirikim faktörü	Ücretsiz
VEGA (IRFMN)	CAESAR, Meylan ve KNN/Çapraz Okuma modelleri	Ücretsiz
CASE Ultra (MultiCASE)	EcoTox model paketi	Ticari
CATALOGIC (LMC)	İki BCF tabanlı model	Ticari

Sucul biyobirikim (Q)SAR modelleri için en önemli yaklaşımlar aşağıda sunulmuştur.

Her model türünü ve bunları geliştirmek için kullanılan teknikleri göstermek için bazı örnekler verilmiştir. Bu özeti *kapsamlı bir model listesi olması amaçlanmamıştır*: uygunsa diğer yöntemler ve modeller dikkate alınmalıdır. Tüm modeller, Avrupa düzenleyici amaçları göz önünde bulundurularak geliştirilmemiştir ve bu nedenle, her durumda, öngörülen sonlanma noktasının, ilgili yasal sonlanma noktasına karşılık gelip gelmediğini değerlendirmek önemlidir.

Log Kow değerine dayanan BCF modelleri

En yaygın ve en basit QSAR modelleri, BCF ile kimyasal hidrofobiklik arasındaki ilişkilere dayanır (log K_{ow} ile modellenen şekilde). Bu ilişkinin mekanik temeli, lipid açısından zengin dokular ve su arasındaki dağılım sürecinin *n*-oktanol ve su arasındaki dağılıma benzetilmesidir (burada *n*-oktanol, bir lipid vekili olarak işlev görür). Bu modelde, alımın solungaç membranlarından pasif yayılımın bir sonucu olduğu düşünülmektedir.

Polar olmayan, hidrofobik organik maddeler için çeşitli log BCF/log K_{ow} ilişkileri önerilmiş ve yasal uygulamalarda kullanılmıştır. Bazıları, klorlanmış polisiklik hidrokarbonlar (Schüürmann *ve ark.*, 1988) ve anilinler (Zok *ve ark.*, 1991) gibi belirli kimyasal sınıflar için türetilmiştir, ancak birçoğu çeşitli madde setlerini içerir (örn. Neely *ve ark.*, 1974; Veith *ve ark.*, 1979; Ellgenhausen *ve ark.*, 1980; Könemann *ve van Leeuwen*, 1980; Geyer *ve ark.*, 1982; Mackay, 1982; Veith *ve Kosian*, 1983; Geyer *ve ark.*, 1984; Hawker *ve Connell*, 1986; Connell *ve Hawker*, 1988; Geyer *ve ark.*, 1991; Bintein *ve ark.* 1993; Gobas, 1993; Lu *ve ark.*, 1999; Escuder-Gilabert *ve ark.*, 2001; Dimitrov *ve ark.*, 2002a). Örneğin, Veith *ve ark.* (1979), 55 farklı maddeden oluşan bir set için aşağıdaki nicel yapı aktivite ilişkisini geliştirmiştir:

$$\log \text{BCF} = 0.85 \times \log \text{K}_{ow} - 0.70 \quad R^2 = 0.897, \log \text{K}_{ow} \text{ aralığı} = 1-5.5$$

burada R^2 korelasyon katsayısıdır.

Çeşitli ilişkiler arasındaki farklar, muhtemelen eğitim setlerindeki maddeler için kullanılan test koşullarındaki değişkenliklerden kaynaklanmaktadır (Nendza, 1988). İncelenen maddelerin log K_{ow} değerleri aralığı da çok geniş olabilir.

Doğrusal ilişkiler, 1 ila 6 aralığında log K_{ow} değerlerine sahip iyonik olmayan, yavaş metabolize olan maddeler için iyi bir BCF tahmini verir. Bununla birlikte, bu tür yöntemlerle tahmin edilenden daha düşük BCF değerine sahip olan daha hidrofobik maddelerle ilişki bozulur. Bunun için aşağıdakiler dahil olmak üzere çeşitli olası nedenler tespit edilmiştir (örn. Gobas *ve ark.*, 1987; Nendza, 1988; Banerjee *ve Baughman*, 1991):

- azalan biyoyararlanım ve maruz kalma konsantrasyonlarının ölçülmesinde zorluklar (suda az çözünürlük nedeniyle),
- büyük moleküllerin zardan yavaş geçişi nedeniyle kararlı hale ulaşılamaması ve
- büyüme seyrelmesi, metabolizma, bozulma vb.

Bu sorunun üstesinden gelmek için daha karmaşık ilişki türleri geliştirilmiştir. Hansch (atıfta bulunulan: Devillers *ve Lipnick*, 1990) basit bir parabolik model önermiştir; Kubinyi (1976, 1977 ve 1979) ve Kubinyi *ve ark.* (1978) daha sonra birçok ilaç tasarımı ve çevresel QSAR çalışmasında başarıyla kullanılan çift doğrusal bir model önermiştir. Doğrusal, parabolik ve çift doğrusal modeller geliştirilmiş ve Bintein *ve ark.* tarafından (1983)

çift doğrusal ilişkinin daha iyi performansının altını çizen, 1.12 ile 8.60 arasında bir log K_{ow} aralığına sahip 154 farklı maddeden oluşan bir veri seti üzerinde karşılaştırılmıştır.

$$\log BCF = (0.910 \times \log K_{ow}) - (1.975 \times \log (6.8E-7 \times K_{ow} + 1)) - 0.786$$

$$R^2 = 0.865 \quad s = 0.347 \quad F = 463.51$$

R^2 çoklu korelasyon katsayısı olduğunda, s tahminin standart hatasıdır ve F Fisher test değeridir.

Connell ve Hawker (1988), denge dışı koşulların etkisini ortadan kaldıracak şekilde oluşturulan 4. dereceden bir polinom ilişkisi önermiştir. 43 madde üzerindeki verilere dayanan eğri, 6.7'lik bir log K_{ow} değerinde maksimum log BCF değerine ve daha yüksek log K_{ow} değerlerine sahip maddeler için azalan log BCF değerlerine sahip bir parabole benzer.

Bu ilişki yeniden hesaplanmıştır ve maddelerin risk değerlendirmesinde kullanılması için ("değiştirilmiş Connell denklemi" olarak) önerilmiştir (EC, 2003):

$$\log BCF = -0.2 \log K_{ow}^2 + 2.74 \log K_{ow} - 4.72 \quad R^2 = 0.78$$

Meylan ve ark. (1999) 694 maddeden oluşan geniş bir veri setinin analizinden bir parça yaklaşımına dayanan bir log BCF/log K_{ow} modeli paketi önermiştir. Ölçülen BCF değerleri ve diğer deneysel ayrıntılar Syracuse BCFWIN veritabanında (SRC Biyokonsantrasyon Faktörü Veri Tabanı) toplanmış ve BCFWIN yazılımını (Syracuse Research Corporation, Biyokonsantrasyon Faktörü Programı BCFWIN) desteklemek için kullanılmıştır. En uygun eğriden önemli sapmalara sahip maddeler, bunları iyonik olmayan, iyonik, aromatik ve azo bileşikleri, kalay ve cıva bileşikleri hakkındaki veri alt kümelerine bölerek dikkatle analiz edilmiştir. Doğrusallıktan sapma nedeniyle, farklı log K_{ow} aralıkları için farklı modeller geliştirilmiştir ve BCF tahminlerinin doğruluğunu artırmak için 12 düzeltme faktörü ve kural seti tanımlanmıştır. Ortalama olarak, türetilen metodolojinin uygunluğunun iyiliği, incelenen bileşikler için yarım log birimi içindedir.

Log BCF ve log K_{ow} arasındaki doğrusal olmayan tek bir deneysel model Dimitrov ve ark. tarafından (2002a) Meylan ve ark. (1999) veri setinden elde edilen log K_{ow} aralığı -5 ila 15 arasında olan 443 polar ve polar olmayan narkotik madde için türetilmiştir. Hidrofobikliğin biyokonsantrasyon potansiyelinin değişkenliğinin %70'inden fazlasını açıkladığı bulunmuştur. Log K_{ow} 1 ila 6 aralığında doğrusal bir ilişki tanımlanmıştır. Bileşikler, maksimum log BCF / log K_{ow} eğrisinin çevresinde ve ötesinde geniş ölçüde dağılmıştır. Bu QSAR, düşük ve yüksek log K_{ow} değerlerinde 0,5'e yaklaşan log BCF değerini hesaba katmak için Gauss tipi bir ilişki verir. Önerilen modelin sürekli olması, Meylan ve ark. (1999) çalışmasının kesik doğru modelinden daha gerçekçi kabul edilmiştir. Diğer doğrusal olmayan nicel yapı aktivite ilişkileriyle karşılaştırıldığında bu modelin asıl özgünlüğü, aşırı hidrofilik ve hidrofobik maddeler için asimptotik eğilimidir.

Genel olarak şu sonuca varılabilir:

- doğrusal denklemler 1-6 arasındaki log K_{ow} aralığında uygulanabilir; ve
- doğrusal olmayan denklemler 6'nın üzerinde log K_{ow} değerinde daha iyi performans gösterir.

Bu nedenle, 6'nın hemen üzerindeki bir log K_{ow} değerinde kesiştikleri gerçeğine dayalı olarak, iki tür arasındaki geçiş noktası olarak 6 değerinde log K_{ow} kullanılabilir.

Diğer deneysel olarak türetilmiş tanımlayıcılara dayalı BCF modelleri

Log K_{ow} kadar yaygın olarak kullanılmasa da, BCF'nin suda çözünürlük (S) ile ilişkileri geliştirilmiştir (örneğin Chiou ve ark., 1977; Kenaga ve Goring, 1980; Davies ve Dobbs, 1984; Jørgensen ve ark., 1998). Log K_{ow} ile sıvılar için suda çözünürlük arasında güçlü (ters) bir ilişki olduğu unutulmamalıdır. Bununla birlikte, suda çözünürlük katı maddeler için hidrofobikliğin iyi bir tahmini değildir (çünkü erime noktası da bir etkiye sahiptir) ve bunun yerine aşırı soğutulmuş sıvının çözünürlüğü kullanılmalıdır (eğer bu tahmin edilebiliyorsa, örn. bkz. Yalkowski ve ark., 1979).

Örnek olarak Isnard ve Lambert (1988), suda çözünürlüğün mol/m³ cinsinden olduğu 107 madde (hem katı hem de sıvı) için aşağıdaki BCF modelini geliştirmiştir:

$$\log BCF = -0.47 \times \log S + 2.02 \quad R^2 = 0.76$$

Hem eğim hem de regresyon korelasyon katsayısının nispeten düşük olduğuna dikkat edilmelidir. Bu, eğitim setlerinde hem katı hem de sıvı içeren bu tür nicel yapı aktivite ilişkileri için yaygın bir sorundur. Tahminler bu nedenle önemli hatalara yatkın olabilir. Sonuç olarak, sulu çözünürlüğe dayalı nicel yapı aktivite ilişkilerinin uygulanması için özel gerekçelendirme yapılmalıdır.

Teorik moleküler tanımlayıcılara dayalı BCF modelleri

Ya log K_{ow} ya da suda çözünürlüğe dayalı BCF QSAR modellerinin çoğunun mekanik temeli, modellemeden önce, eğitim yapıları ve/veya tanımlayıcıların ilk setinin önceden tanımlanmış bir etki mekanizmasına uyacak şekilde seçilmesi sağlanarak belirlenmiştir. Bununla birlikte, deneysel girdi parametresi verileri her madde için her zaman mevcut olmayabilir (örneğin, bir testi gerçekleştirirken teknik zorluklar olabilir) veya madde, tahmin modellerinin alanının dışında olabilir. Sonuç olarak, teorik tanımlayıcılara dayalı istatistiksel çalışmaların ardından literatürde başka modeller önerilmiştir. Örnekler aşağıdakilere dayalı yöntemleri içerir:

- **moleküler bağlantı indeksleri** (MCI) (Sabljic ve Protic, 1982; Sabljic, 1987; Lu ve ark., 1999; Lu ve ark., 2000),
- solvatokromik veya doğrusal çözünme enerji ilişkisi (LSER) tanımlayıcıları (Kamlet ve ark., 1983; Park ve Lee, 1983),
- Leo (1975) tarafından geliştirilen kurallara göre madde parçalanmasına dayanan **parça sabitleri** (Tao ve ark., 2000 ve 2001; Hu ve ark., 2005),
- kuantum kimyasal tanımlayıcıları (Wei ve ark., 2001) ve
- genetik algoritma ile seçilen **çeşitli teorik moleküler tanımlayıcılar** (Gramatica ve Papa, 2003 ve 2005).

Teorik tanımlayıcılar değişkenlikten muzdarip değildir, ancak uzman olmayanlar tarafından belirlenmesi zordur. İlave olarak, bu tür modeller, geliştiriciler tarafından normalde olduğundan daha geniş bir madde kümesi için tahminler sağlayabilecek şekilde algılanmaktadır. Bununla birlikte, bu tür modellerin etki alanı zaman zaman iyi tanımlansa da, çoğu modelin eğitim setinin söz konusu maddeyle ilgili olup olmadığını belirlemek için belirli bir yeterlilik derecesi gerektirir. Bu modellerin mekanik temeli, modelleme sonrasında, eğitim yapıları ve/veya tanımlayıcıların son seti yorumlanarak belirlendiği için, mekanik yorumlanabilirlikten yoksun olmaları nedeniyle sıklıkla eleştirilirler.

Bu nedenle, kayıt ettiren BCF değerini bu şekilde tahmin etmeyi seçerse, bu tür bir modelin kullanımı ayrıntılı olarak tanımlanmalı ve gerekçelendirilmelidir.

"B-profil" tanımlamak için QSAR modeli

Dimitrov ve ark. tarafından, özellikle PBT değerlendirmesi için bir temel modelleme kavramı önerilmiştir (2005a). Örneğin moleküler boyut, maksimum çap (Dimitrov ve ark., 2002b), iyonlaşma ve balıklar tarafından potansiyel metabolizma (kemirgen metabolik yollarından tahmin edildiği gibi) olmak üzere bu maksimum değeri azaltmak için kullanılan bir dizi hafifletici faktör ile maksimum biyokonsantrasyon faktörü (BCF_{maks}) (Dimitrov ve ark., 2003) varsayımına dayanmaktadır. Eğitim setindeki maddeler, 0.5'lik log K_{ow} aralıklarına göre gruplara ayrılmıştır ve her gruptaki en yüksek beş BCF, maksimum alım eğrisi (pasif yayılım yoluyla) oluşturmak için kullanılmıştır. Bu nedenle model, özellikle küçük, iyonlaşmamış, zayıf metabolizasyon gösteren maddeler için diğer teknikler kullanılarak tahmin edilen BCF'lerden daha yüksek olabilecek şekilde, bir madde için maksimum BCF (BCF_{maks}) öngörür.

Kullanılan eğitim seti için, ölçülen gerçek BCF değerine en yakın tahmini BCF değerini elde etmek için en önemli azaltıcı faktör metabolizma olmuştur. Türetilen modelin hassasiyet ve özgünlük açısından çok iyi performans gösterdiği gösterilmiştir. İlave olarak, eğitim seti için kullanılan ölçülmüş BCF verileri, modelin uygulanabilirlik alanının genel bir açıklaması ile birlikte sağlanır.

Besin ağı biyobirikim modelleri

BCF modellemek için birçok QSAR önerilmiş olsa da, biyobirikim faktörü (BAF) için daha az model mevcuttur (örn. Barber ve ark., 1991; Thomann ve ark., 1992; Gobas, 1993; Campfens ve Mackay, 1997; Morrison ve ark., 1997).

Besin zinciri veya besin ağı modelleri, sucul (ve karasal) organizmalarda (Hendriks ve Heikens, 2001; Traas ve ark., 2004) ve ayrıca insanlarda (örneğin Kelly ve ark., 2004) biyobirikimi tahmin etmek için kullanılabilir. Bu modeller detritus (ölü organik materyal) (su veya çökelti), bitkiler veya hayvanlar gibi beslenme kaynaklarından, sudan ve havadan alımları bütünleştirir. Bir besin zincirindeki organizmalardaki konsantrasyonlar, sudan ve ardışık gıda kaynaklarından alımı açıklamak için her trofik seviyeye ilişkin bir dizi denklem birbirine bağlanarak modellenabilir.

Türlerin birden fazla besin kaynağı varsa, farklı türler arasındaki akışların aynı anda gerçekleşebileceği daha karmaşık bir besin ağı vardır. Böyle bir model, çevresel davranışı tanımlamak için çok ortamlı modellere matematiksel olarak çok benzer. Bu modellerin en büyük avantajı, herhangi bir boyuttaki besin ağlarının, ihtiyaç duyulduğu kadar çok besin kaynağı ile tanımlanabilmesi ve tüm türlerdeki konsantrasyonların aynı anda hesaplanabilmesidir (Sharpe ve Mackay, 2000).

Genel olarak, besin ağı modelleri, yavaş metabolize olan kalıcı halojenli organik kirleticilerin kararlı hal konsantrasyonlarını başarıyla tahmin etmektedir (Arnot ve Gobas, 2004; Traas ve ark., 2004). Bununla birlikte, bu kütle dengesi modelleri genellikle hesaplama açısından yoğundur ve tipik olarak bölgeye özel bilgiler gerektirir, bu nedenle çok sayıda maddenin taranması için hemen uygulanamaz.

Farklı trofik seviyelerde türlerin BAF değeri tahmin edilerek, bu hem su hem de gıda alımını deneysel regresyonlarla (Voutsas ve ark., 2002) veya yarı deneysel bir BAF modeliyle (Arnot ve Gobas, 2003) açıklayan farklı, daha basit bir yaklaşım benimsenebilir. Bunlar, ölçülen saha BAF verilerine göre kalibre edilir ve seçilen eşdeğer trofik seviyelerde (algler, omurgasızlar ve balıklar) organik maddeler için maksimum BAF hesaplanır.

Arnot ve Gobas (2003) besin ağı biyobirikim modeli, Kanada Eysel Maddeler Listesindeki organik maddeleri kategorize etmek için Environment Canada tarafından yaygın olarak kullanılan basit, tekli bir kütle-denge denklemdir. Model, birkaç girdi parametresi gerektirir (yani, eğer mevcutsa, yalnızca K_{ow} ve metabolik dönüşüm hızı - varsayılan sıfırdır) ve BAF değerini, üst trofik seviyedeki bir organizmadaki madde konsantrasyonunun ve filtrelenmemiş sudaki toplam madde konsantrasyonunun oranı olarak türetir (ayrıca besin ağı için bir toplam biyomagnifikasyon faktörü de tahmin eder). Madde alım ve eliminasyon oranlarını açıklar (Gobas, 1993 kaynağından balıklardaki organik maddeler için hız sabitlerini tahmin etmek üzere bir dizi basit ilişki geliştirilmiştir) ve özellikle biyoyararlanım hususlarını içerir.

Model tahminleri ile ölçülen BAF değerleri arasındaki temel tutarsızlıklar genellikle bir maddenin organizma tarafından biyodönüşümü ve su sütunundaki ve çökeltideki biyoyararlanımlı konsantrasyonların olduğundan fazla tahmin edilmesinden kaynaklanır. Diğer önemli tutarsızlık kaynakları, bölgeye özel besin zinciri parametrelerindeki farklılıklar ile genel varsayımlarla ilgilidir (örn. büyüme hızları, lipid içerikleri, besin zinciri yapısı, maruz kalma konsantrasyonlarında mekansal ve zamansal değişim, çökelti-su dengesizliği, vb.).

Çapraz okuma ve kategoriler

Ayrıca [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.6'daki R.6.1 ve R.6.2 Alt Bölümleri de incelenmelidir.

Bir madde canlı organizmalarda biriktiği bilinen bir kimyasallar sınıfına aitse, biyobirikim potansiyeli olabilir. Yapısal olarak yakından ilişkili bir madde için geçerli bir BCF mevcutsa, çapraz okuma uygulanabilir. Çapraz okuma uygularken, lipofiliklik ve her iki madde için metabolik etki merkezi olmak üzere, iki önemli husus dikkate alınmalıdır (bkz. Bölüm [R.7.10.4.2](#)).

R.7.10.3.3 Sucul biyobirikim üzerine saha verileri

Yorumlama genellikle zor olsa da, saha ölçümlerinin sonuçları ikincil zehirlenmeye bağlı risklerin değerlendirilmesini (Ma, 1994) ve PBT değerlendirmesini desteklemek için kullanılabilir. Aşağıdaki çalışma türleri, maddelerin biyobirikim özellikleri hakkında bilgi sağlayabilir:

- **İzleme verileri:** Bir organizmanın dokusundaki bir maddenin saptanması, o organizma tarafından alındığına dair açık bir gösterge sağlar, ancak tek başına önemli bir biyokonsantrasyon veya biyobirikim meydana geldiğini göstermez. Bunun için kaynaklar ve güncel maruz kalma seviyeleri (örneğin su ve gıda yoluyla) bilinmeli veya makul şekilde tahmin edilmelidir.
- **Özel besin zincirlerinin / ağlarının saha ölçümleri:** Tanımlanmış besin zincirlerinde veya besin ağlarında çeşitli trofik seviyelerde organizmalardaki konsantrasyonların ölçümü, biyomagnifikasyonu değerlendirmek için kullanılabilir. Bununla birlikte, besin ve trofik biyo-magnifikasyon, sucul organizmalardaki biyokonsantrasyondan farklı süreçleri temsil ettiğinden, BMF ve/veya TMF değerleri < 1 , BCF > 2000 veya BCF > 5000 geçerli BCF verilerini göz ardı etmek için doğrudan kullanılamaz, ancak bu veriler ayrı kanıt hatlarıdır ve sonuçlara ulaşmak için bir *kanıt ağırlığı yaklaşımında* diğer ilgili mevcut verilerle birlikte ele alınması gerekir.

- **Dış ortam mezozozmaları:** Dış ortam mezo- veya mikrokozma çalışmaları yapay tanklar veya göletler ile veya mevcut ekosistemlerin parçalarını çevreleyerek gerçekleştirilebilir (rehberlik OECD, 2006 içerisinde verilmiştir). Bu tür çalışmaların odak noktası genellikle çevresel etkiler olmakla birlikte, yeterli konsantrasyon ölçümlerinin yapılması şartıyla sistemdeki biyobirikim hakkında bilgi sağlayabilir.
- **Kafeslenmiş organizmalar kullanılarak yerinde biyobirikim testleri:** Sibley ve ark.. (1999), tatarcık *Chironomus tentans* ve kara ve tatlı su solucangilleri *Lumbriculus variegatus* kullanarak saha koşullarında çökelti toksisitesini ve biyobirikimi test etmek için basit, ucuz bir biyo-analiz odası inşa etmiştir. *İn situ* biyo-analizin, kirlenmiş çökeltelerde biyobirikimi değerlendirmek için başarıyla kullanılabileceği sonucuna varmışlardır. Bu çalışmalar, laboratuvar testleri için toplama sırasında çökelti manipülasyonunun neden olduğu sorunların üstesinden gelebilir (çökeltinin fiziksel bütünlüğünün bozulması, kirleticilerin biyoyararlanımını değiştirebilir). *İn situ* testlerdeki organizmalar, su ve/veya gıda yoluyla kirleticilere maruz kalır. Testler bu yollar arasında bir ayrım yapamaz. Ayrıca, biyobirikim sürecini potansiyel olarak değiştiren çevresel faktörler kontrol edilmemektedir. Bu faktörler, bilgi eksikliği veya maruz kalma konsantrasyonları ve biyoyararlanım yönlerinin kontrolünü içerir (ancak bunlarla sınırlı değildir). Sıcaklık veya su oksijen içeriği de organizmanın fizyolojik durumunu etkileyebilir ve sonuç olarak alım oranını etkileyebilir.

Saha çalışmaları, biyobirikim faktörlerini (BAF) ve biyota-çökelti birikim faktörlerini (BSAF) türetmek için kullanılabilir ve su kalitesi standartlarını geliştirmek için kullanılmıştır (örneğin, ABD-EPA, 2000b). Biyota-çökelti birikim faktörleri basit oranlardır - iki tanım da ekosistem koşulları, alım yolları ve organizma ve maruz kalma ortamındaki maddelerin konsantrasyonları arasındaki ilişkiler hakkında herhangi bir açıklama içermez (bkz. Ankley ve ark., 1992; Thomann ve ark., 1992). Saha B(S)AF değerleri, maruz kalmadaki doğal zamansal ve mekansal değişkenlik, çökelti-su sütunu kimyasal ilişkileri, değişen sıcaklıklar, madde ve besin karışımlarına eşzamanlı maruz kalma ve geçmiş ve mevcut yüklemeler nedeniyle değişken maruz kalmalar gibi ekosistem değişkenlerinden etkilenir. Genel olarak, (sözde-) kararlı hal koşulları altında elde edilen veriler şiddetle tercih edilir.

Ayrıca, hayvansal plankton için sahadan türetilmiş BAF değerleri raporlayan çalışmaların hem içinde hem de arasında önemli değişkenliklerin bulunabileceği de unutulmamalıdır (Borgå ve ark., 2005) ve bu değişkenlik BAF değerlerini K_{ow} veya diğer tanımlayıcılarla ilişkilendirirken göz ardı edilmemelidir. Yazarlar, değişkenliği su fazındaki maddenin ölçümlerindeki zorluklara, beslenme yoluyla ilave alıma ve maddelerin lipidlerden başka organik fazlara dağılım olasılığına bağlamaktadır.

Saha verilerinin miktarı ve kalitesi sınırlı olabilir ve yorumlanması zor olabilir. Bu, özellikle tüm besin zinciri boyunca birikimi tanımlayan trofik magnifikasyon faktörleri için geçerlidir. TMF geçerliliği, numune alınan mekansal ve zamansal ölçeklere büyük ölçüde bağlıdır. Bu, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.11, Bölüm R.11.4.1.2 içerisinde daha ayrıntılı şekilde verilmiştir.

R.7.10.3.4 Biyobirikim potansiyelinin diğer göstergeleri

Aşağıdaki faktörler, özellikle tam olarak geçerli bir balık BCF testi sonucunun yokluğunda, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının bir parçası olarak birçok madde için geçerli olacaktır.

n-oktanol/su dağılım katsayısı

Bir tarama yaklaşımı olarak, biyobirikim potansiyeli, n-oktanol/su dağılım katsayısı (K_{ow}) değerinden tahmin edilebilir (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.7a Bölüm R.7.1). $\log K_{ow}$ 3'ten büyük veya $\log K_{ow}$ 3'e eşit değerleri, maddenin önemli ölçüde biyobirikim gösterebileceğini belirttiği kabul edilmektedir. Belirli madde türleri için (örn. yüzey aktif maddeler ve suda iyonlaşanlar), $\log K_{ow}$ bir BCF değerinin hesaplanması için uygun olmayabilir (bkz. [Ek R.7.10-3](#)). Bununla birlikte, BCF yalnızca $\log K_{ow}$ temelinde tahmin edildiğinde dikkate alınmayan birkaç faktör vardır, bunlar:

- aktif taşıma olgusu;
- organizmalardaki metabolizma ve herhangi bir metabolitin birikim potansiyeli;
- doku bileşenleri ile belirli etkileşimler nedeniyle afinite;
- özel yapısal özellikler (örn. amfifilik maddeler veya çoklu denge süreçlerine yol açabilen ayrıştırıcı maddeler); ve
- alım ve temizlenme kinetiği (örneğin temizlenmeden sonra organizmada kalan konsantrasyonun plato düzeyinde kalmasına yol açan).

İlave olarak, n-oktanol yalnızca lipid bölümünü temsil eder ve bu nedenle diğer depolama alanlarını (örneğin protein) temsil etmez.

Yaklaşık sekizin üzerindeki $\log K_{ow}$ değerleri hesaplanabilmesine rağmen, bunların genellikle güvenilir bir şekilde ölçülemediği unutulmamalıdır ([BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.7a, Bölüm R.7.1). Bu nedenle, bu tür değerler yalnızca nitel açıdan değerlendirilmelidir. Aynı zamanda, deneysel $\log K_{ow}$ ve bu değer üzerindeki BCF değerlerinin olmamasına bağlı olarak bir üst $\log K_{ow}$ sınır değerinin kullanılması gerekip gerekmediği de değerlendirilmiştir. Mevcut bilgilere dayalı olarak, PBT değerlendirmeleri için, $\log K_{ow}$ 10 veya üzerindeki hesaplanmış değer, azalan biyokonsantrasyonun bir göstergesi olarak alınır. Bunun ve bu tür diğer göstergelerin (yüksek molekül kütlesi ve büyük molekül boyutu gibi) kullanımı, [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.11 içerisinde daha ayrıntılı olarak tartışılmaktadır.

Yüzeyle tutunma (Adsorpsiyon)

Solungaçlar veya deri gibi biyolojik yüzeyler üzerine tutunma da biyobirikime ve besin zinciri yoluyla alımlara yol açabilir. Bu nedenle, yüksek yüzeye tutunma özellikleri, hem biyobirikim hem de biyomagnifikasyon için bir potansiyel gösterebilir. Oktanol/su dağılım katsayısının doğru bir şekilde ölçülemediği bazı maddeler için, yüksek yüzeye tutunma kapasitesi ($\log K_p > 3$ bir gösterge olabilir) biyobirikim potansiyelinin ek kanıtı olabilir.

Maruz kalma ortamında meydana gelen hidroliz ve diğer abiyotik bozunma/dönüşüm olayları

Hidrolizin etkisi, esas olarak su ortamına boşaltılan maddeler için önemli bir faktör olabilir: eğer madde yeterince hidrofilik ise, sudaki konsantrasyonu hidrolizle azalabilir, böylece sucul organizmalardaki biyokonsantrasyon derecesi de azalabilir. Bununla birlikte, organik maddeye ve/veya lipidlere yüksek oranda tutunan maddeler için, yüzeye tutunma hızı çoğu durumda hidroliz hızından daha hızlıdır. Bu nedenle, hidroliz hızı normalde biyobirikim potansiyelinin değerlendirilmesine girişimde bulunmamalıdır. Bir maddenin hidroliz hızının hızlı olması durumunda, öncelikle çökelti ve/veya topraktaki maddenin bozunma potansiyelinin değerlendirilmesi/test edilmesi gerekir ve madde nicel risk değerlendirmesi ve/veya PBT/vPvB değerlendirmesi açısından çökelti ve/veya toprakta yeterince kararlı ise, hızlı hidrolize rağmen kararlı bir maruz kalma konsantrasyonu sağlayan koşullarda maddenin kendisinin biyobirikim potansiyelinin değerlendirilmesi/test edilmesi gerekir. Çevresel olarak ilgili pH değerlerinde (4-9) ve sıcaklıkta hidroliz yarı ömrü 12 saatten az olduğunda ve yukarıda açıklanan senaryonun geçerli olmadığı durumlarda, bir maruz kalma değerlendirmesi, bir zararlılık değerlendirmesi ve gerekirse ana madde yerine ilgili hidroliz ürünleri üzerinde bir biyobirikim testi yapmak uygun olabilir. Birçok durumda hidroliz ürünlerinin daha hidrofilik olduğu ve sonuç olarak (kayıtlı) maddenin kendisinden daha düşük bir biyobirikim potansiyeline sahip olacağı unutulmamalıdır. Bu aynı zamanda, karmaşık çözünme/dönüşüm süreçleri gibi diğer abiyotik bozunma ve dönüşüm yollarında benzer şekilde geçerlidir.

Biyobozunurluk

Biyobozunurluk, sucul ortamda nispeten düşük konsantrasyonlara ve dolayısıyla sucul organizmalarda düşük konsantrasyonlara neden olabilir. İlave olarak, kolay biyobozunur maddelerin organizmalarda hızla metabolize olması muhtemeldir. Bununla birlikte, alım hızı yine de bozunma süreçlerinin hızından daha büyük olabilir ve bu da kolay biyobozunur maddeler için bile yüksek BCF değerlerine yol açar. Bu nedenle, kolay biyobozunurluk, biyobirikim potansiyelini engellemez. Biyotadaki nihai konsantrasyon (ve dolayısıyla biyobirikim faktörleri) aynı zamanda çevresel salımlara ve yayılmaya ve ayrıca organizmanın alımına ve metabolizmasına ve temizlenme hızına da bağlı olacaktır. Kolay biyobozunur maddeler, genellikle daha az biyobozunur maddelere göre maruz kalan organizmalarda önemli ölçüde daha yüksek metabolize olma olasılığına sahip olacaktır. Bu nedenle, genel anlamda (maruz kalma ve alıma bağlı olarak), kolay biyobozunur maddelerin çoğunun konsantrasyonları suda yaşayan organizmalarda düşük olacaktır ve kolay biyobozunurluğa dair kanıtlar, biyobirikim değerlendirmesi için *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında yararlı bilgiler sağlayabilir. Bozunma kinetiğiyle ilgili bilgiler genellikle çoğu madde için eksik olacaktır.

Kalıcı metabolitler önemli miktarlarda oluşursa, bu maddelerin biyobirikim potansiyeli de değerlendirilmelidir. Bununla birlikte, çoğu madde için bilgi az olacaktır (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.7b, Bölüm R.7.9). Muhtemel bozunma ürünleri oluşumuna ilişkin bilgiler, biyobozunurluk yollarını ve metabolitleri tahmin edebilen METABOL ve CATABOL gibi uzman sistemler kullanılarak da elde edilebilir (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.7b, Bölüm R.7.9).

Memeli metabolizması ile çevresel dönüşüm arasındaki ilişki basit olmadığından, sonuçların uyarlanmasının dikkatle ele alınması gerekliliğine rağmen, metabolitlerin oluşumu ile ilgili bilgiler memelilerle yapılan deneylerden elde edilebilir (aşağıya bakınız). Memeli türlerindeki (esas olarak kemirgenler) olası metabolitlerin tahminleri, Multicase ve DEREK gibi uzman sistemler kullanılarak elde edilebilir (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.7b, Bölüm R.7.9.6 ve Kısım R.6, Bölüm R.6.1), metabolik yolların ve metabolitlerin tahminlerinin yanı sıra biyolojik önemlerini de sunar.

Yukarıda atıfta bulunulanlar gibi olası bozunma ürünlerinin veya metabolitlerin oluşumunu tahmin eden uzman sistemlerin yorumlanması, uzman görüşü gerektirir. Bu, örneğin, bazı sistemler bu konuda bazı bilgiler veya rehberlik sunsa da, tahmin edilen dönüşüm ürünlerinin olasılığının ve olası biyolojik öneminin tanımlanmasıyla ilgili olarak geçerlidir.

Molekül boyutu

Molekül boyutuna ilişkin bilgiler, bir maddenin sınırlı biyobirikim potansiyeline ilişkin kanıtları güçlendirmek için bir gösterge olabilir. Daha fazla bilgi için [BG ve KGD Rehberinin](#) R.11 Bölümü incelenmelidir.

İlave hususlar

Hava soluyan organizmalar için, solunum yolu eliminasyonu lipid-hava değişimi yoluyla gerçekleşir ve birçok memelide 5'in üzerinde bir log K_{oa} değerinde gerçekleşeceği tahmin edilen biyomagnifikasyon ile, oktanol-hava dağılım katsayısı (K_{oa}) arttıkça bu lipid-hava değişimi azalır (Kelly ve ark., 2004). Bu biyomagnifikasyon, madde ve metabolitleri idrarda hızlı bir şekilde elimine edilirse (yani log K_{ow} yaklaşık 2 veya daha az değere sahipse) gerçekleşmez. Dolayısıyla, hava soluyan organizmalardaki biyobirikim potansiyeli, hem log K_{ow} hem de log K_{oa} 'nın bir fonksiyonudur. Buna karşılık, memeli olmayan sucül organizmalarda solunum yolu eliminasyonu suda solungaç havalandırması yoluyla gerçekleşir ve bu sürecin log K_{ow} ile ters orantılı olduğu bilinmektedir (bu nedenle, log K_{ow} değerindeki bir artış, eliminasyon hızında azalmaya ve dolayısıyla birikim potansiyelinde artışa neden olur) (Gobas ve ark. (2003)).

Bu bulgulara dayanarak Kelly ve ark. (2004), maddelerin hava soluyan organizmalarda biyobirikim potansiyeline göre dört grupta sınıflandırılabilceğini önermiştir.

Bu gruplar aşağıda özetlenmiştir.

- Polar uçucular (düşük log K_{ow} ve düşük log K_{oa}). Bu maddeler, hava soluyan organizmalarda veya sucül organizmalarda düşük biyobirikim potansiyeline sahiptir.
- Polar olmayan uçucular (yüksek log K_{ow} ve düşük log K_{oa}). Bu maddelerin sucül organizmalarda yüksek birikim potansiyeline sahip olduğu, ancak hava soluyan memelilerde düşük birikim potansiyeline sahip olduğu tahmin edilmektedir.
- Polar olmayan ve uçucu olmayan maddeler (yüksek log K_{ow} ve yüksek log K_{oa}). Bu maddeler, hem hava soluyan organizmalarda hem de sucül organizmalarda yüksek bir biyobirikim potansiyeline sahiptir.
- Polar ve uçucu olmayan maddeler (düşük log K_{ow} ve yüksek log K_{oa}). Bu madde grubu, sucül organizmalarda düşük bir biyobirikim potansiyeline sahiptir, ancak hava soluyan organizmalarda yüksek biyobirikim potansiyeline sahiptir (hızlı bir şekilde metabolize edilmedikleri sürece).

Bu bulgular, sucul sistemlerde biyobirikim potansiyeli sınırlı gibi görünen bazı maddeler için besin zincirinin zirvesindeki yırtıcılarda birikim için uygun bir değerlendirme olabilir.

R.7.10.4 Sucul biyobirikim ile ilgili mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

R.7.10.4.1 Sucul biyobirikim üzerine laboratuvar verileri

Sucul biyobirikim üzerine *in vivo* veriler

Balık biyokonsantrasyon testi

İlke olarak, standart test rehberleri kullanılarak gerçekleştirilen çalışmalar, aşağıdakilerin sağlanması koşuluyla tam olarak geçerli veriler sağlamalıdır:

- test maddesi özellikleri, test rehberinde öngörülen tavsiye edilen aralıkta yer alır,
- konsantrasyonlar uygun bir analitik teknikle ölçülür ve
- veriler, geçerlilik kriterlerinin karşılandığını doğrulamak için yeterli ayrıntıda raporlanır.

Sonuçlar, doku tipi (örn. tüm vücut, kas, kemiksiz et, karaciğer, yağ) ile birlikte açık bir şekilde belirtilmiş birimler halinde sunulmalıdır. Tüm vücut ölçüleri tercih edilir ve yağ içeriği ve büyüme seyrelmesi için düzeltme önerilir (düzeltme faktörleri için aşağıdaki bölüm incelenmelidir).

Balık biyobirikim testi verilerinin yorumlanmasına ilişkin ayrıntılı rehberlik OECD (2001) ve OECD (2012a) içerisinde verilmiştir. Uluslararası Yaşam Bilimleri Enstitüsü (ILSI) - Sağlık ve Çevre Bilimleri Birimi (HESI) tarafından desteklenen bir çalışmanın ardından artık daha fazla rehberlik mevcuttur (Parkerton ve ark., 2008). Bunun içinde, geçmiş literatür incelemelerine (örn. Barron, 1990) ve son zamanlarda biyobirikim ve biyokonsantrasyon verileri için önerilen değerlendirme kriterlerine (Arnot ve Gobas, 2003) dayanan anahtar değerlendirme kriterleri ele alınmıştır. Son olarak, bir altın standart veri tabanı geliştirmeye yönelik CEFIC-LRI projesi, bir BCF çalışmasının kalitesinin nasıl değerlendirileceğine dair bir rapor da hazırlamıştır (Versonnen ve ark., 2006). Aşağıdaki kısa rehberler bu çeşitli belgelere dayanmaktadır. [Ek R.7.10-4](#)'te bir kontrol listesi de sunulmaktadır.

Test maddesi bilgileri

- Kimyasal adı, CAS numarası ve saflık dahil olmak üzere test maddesinin kimliği belirtilmelidir (ikincisi özellikle radyoaktif-işaretli test maddeleri içindir).
- Veri kalitesinin değerlendirilmesinde temel fiziko-kimyasal özellikler (örn. suda çözünürlük ve K_{ow}) dikkate alınmalıdır. Suda çözünürlük, BCF değerinin olduğundan az tahmin edilmesine yol açacak şekilde, organizma için mevcut olan çözülmüş madde konsantrasyonunun olduğundan fazla tahmin edilip edilmediğini değerlendirmek için kullanılabilir.

K_{ow} değeri, kararlı hal koşullarının elde edilmesi için yeterli maruz kalma süresinin sağlanıp sağlanmadığına dair bir gösterge sağlayabilir (küçük balıklarda en kötü durum koşullarını varsayan, yani metabolizması olmayan, polar olmayan organik maddeler için) (daha fazla ayrıntı için bkz. OECD (1996)).

Test türü bilgileri

- Test türü tanımlanmalı ve ideal olarak test organizmaları belirli bir cinsiyette, yaşam evresinde ve yaşta/boyutta olmalıdır (çünkü bunlar metabolik dönüşüm potansiyeli veya büyümedeki farklılıkları hesaba katabilir). Kararlı hal durumuna, daha yüksek solunum yüzeyi-ağırlık oranları nedeniyle, küçük organizmalarda daha büyük olanlara göre daha hızlı ulaşılır. Bu nedenle balık boyutu, maruz kalma süresinin yeterli olup olmadığını değerlendirmek için önemli bir husustur.
- Tüm vücut lipid içeriği de önemli bir organizma parametresidir (bu bazen bildirilmemesine rağmen), çünkü bu değişken birçok organik madde için su ve organizma arasındaki dağılım derecesini kontrol eder (aşağıda *düzeltilme faktörlerine* bakınız).

Analitik ölçümler

- Sadece nominal maruz kalma konsantrasyonlarını içeren çalışmalar, diğer çalışmalardan konsantrasyonların iyi korunmuş olacağına dair yeterli kanıt olmadığı sürece güvenilir değildir.
- Güvenilir bir çalışma, hem maruz kalma ortamında hem de balık dokusunda ana maddeye özel bir analitik yöntem kullanılmalıdır. Maddeye özel kabul edilen ve hassas yöntemlerin kullanımını tanımlayan ancak analitik yöntem doğrulamasını (örn. doğrusalılık, kesinlik, doğruluk, geri kazanımlar ve körler) belgelemeyen (veya daha fazla referans vermeyen) çalışmalar, duruma göre değerlendirilmelidir - en iyi şekilde *sınırlı güvenilirlik* şeklinde tanımlanabilirler. Analitik yöntemleri tanımlamayan çalışmalar, maddeye özel ölçümler sağladığı iddia edilse bile, uygulanamaz olarak tanımlanmalıdır.
- Radyoaktif-işaretli test maddesi, organa özel zenginleşmeyi tespit etmek için veya analitik zorlukların olduğu durumlarda faydalı olabilir. Ancak, toplam radyoaktivite ölçümleri tek başına ana madde konsantrasyonunun olduğundan fazla tahmin edilmesine neden olabilir, bunun nedeni aşağıda belirtilenler olabilir:
- test maddesinde bulunabilecek küçük miktarlarda radyoaktif işaretli safsızlıklar ve / veya
- maruz kalma ortamı ve balık dokusundaki biyobozunurluk ve biyodönüşüm süreçleri (yani ölçümler ana madde artı metabolitler (radyoaktif işaret molekülün kararlı bir kısmına yerleştirilmişse) ve hatta balık dokusuna dahil edilmiş karbon ile ilgili olabilir).

Bu nedenle, bir ana bileşiğe özel kimyasal analitik teknik veya seçici temizleme prosedürü, tercihen maruz kalma süresinin sonunda kullanılmalıdır. Ana madde suda kararlı ise ve test çözeltisinin hazırlanmasından dolayı safsızlıkların zenginleşmesi olası değilse, tek başına toplam radyoaktiviteye dayalı BCF genel olarak koruyucu bir değer olarak kabul edilebilir.

Besleme rejimini de değerlendirmek önemlidir, çünkü balıklar beslenmezse safra kesesinde yüksek konsantrasyonlarda (genellikle daha polar) metabolitler birikebilir ve bu da tüm vücut seviyelerinin olduğundan fazla tahmin edilmesine yol açabilir (OECD, 2001). Örneğin, Jimenez ve ark. (1987), deney sırasında balıklar beslendiğinde benzo[a]piren için 608 değerinde BCF (toplam radyoaktiviteye dayalı olarak) ölçmüştür, ancak balıklar beslenmediğinde 3208 değerinde BCF ölçmüştür. Solunum ve metabolizmanın azalması ile bağırsak yolunda safra kesesinden safra salınımının azalması olası açıklamalar olarak belirtilmiştir.

- Bir maddenin çözünürlüğü analitik tespit sınırından daha düşük olarak kaydediliyorsa, suda çözünürlüğün güvenilir bir tahmini elde edilemediğinde, biyokonsantrasyon potansiyeli log K_{ow} değerine dayandırılmalıdır (OECD, 2001).

Maruz kalma koşulları

- Maruz kalma konsantrasyonları, test maddesinin suda çözünürlüğünü aşmamalıdır. Test maruz kalmalarının suda çözünürlüğü önemli ölçüde aştığı durumlarda (örneğin, dağıtıcıların kullanımı nedeniyle) ve analitik yöntemin çözünmüş ve çözünmemiş madde arasında ayırım yapmadığı durumlarda, çalışma verileri genel olarak güvenilir kabul edilmelidir. Organizmaların suda çözünürlük sınırında maruz kaldığı varsayılarak BCF değerinin bir göstergesi verilebilir.
- Suda maruz kalma konsantrasyonları, toksisite endişesi oluşturan konsantrasyonların altında olmalıdır. Tipik olarak, en yüksek maruz kalma konsantrasyonu, 96 saatte Medyan Eşik Sınırı (TLM) değerinin %10'undan az olmalı ve daha düşük konsantrasyon, OECD Test Rehberi 305'e (OECD, 1996) göre sudaki tespit sınırından en az 10 kat daha yüksek olmalıdır.
- Suda maruz kalma konsantrasyonları, alım aşamasında nispeten sabit tutulmalıdır. OECD test rehberi söz konusu olduğunda, maruz kalma odalarındaki test maddesinin konsantrasyonu, ortalama ölçülen değer \pm %20'si dahilinde tutulmalıdır. ASTM rehberi durumunda, ölçülen en yüksek konsantrasyon, maruz kalma odasında ölçülen en düşük konsantrasyondan iki kattan daha büyük olmamalıdır.

Diğer test koşulları

- Kriterler değişiklik gösterse de, uygulama ve kontrol gruplarında %10-20'den az balık ölüm oranı genellikle kabul edilebilir. Ölüm oranının $>$ % 30 olduğu bildirilen durumlarda, çalışmanın güvenilir olmadığı düşünülmelidir. Ölüm oranı bilgisi sağlanmadıysa, kullanılan maruz kalma konsantrasyonu bilinen veya tahmin edilen balık LC₅₀ değerinin en az 10 kat altındaysa, bir seçenek çalışmayı 'sınırlı güvenilirlik' olarak belirlemektir.
- Standart rehberler, çalışma boyunca test odalarında $>$ % 60 oksijen doygunluğunun (satürasyon) korunmasını gerektirir. Kabul edilemez ölüm oranı olmadığı sürece, bu gereklilikten sapan çalışmaların da *sınırlı güvenilirlik* olarak kabul edilebileceği önerilmektedir.

- Seyreltme suyundaki toplam organik karbon (TOC), bazı maddeler için (özellikle yüksek oranda hidrofobik maddeler için) önemli bir su kalitesi parametresidir, çünkü fazla organik kolloidler test maddesiyle kompleks oluşturabilir ve sulu maruz kalma konsantrasyonlarının biyoyararlanımını azaltabilir (örn. Muir ve ark., 1994). OECD ve ASTM rehberleri, TOC değerinin sırasıyla 2 ve 5 mg/l'nin altında olması gerektiğini göstermektedir. Bu nedenle, 5 mg/l'nin üzerinde TOC bildiren bu tür maddelerle yapılan çalışmaların güvenilir olmadığı düşünülmektedir (çünkü bu, BCF değerinin eksik tahmin edilmesine neden olabilir). TOC hakkında hiçbir bilgi mevcut değilse, sürekli akış koşulları altında yapılması ve maddenin analizinin çözünmüş konsantrasyon için yapılması şartıyla, sınırlı güvenilirliğe sahip bir çalışma olarak kabul edilebilir. TOC hakkındaki bilgilerin başka kaynaklardan elde edilebildiği durumlarda (örneğin, test suyunun başka bir yerde karakterize edilen doğal bir kaynaktan olduğu durumlarda) güvenilirlik için daha fazla destek sağlanabilir.
- Test sonlanma noktası, kararlı hal koşullarını yansıtmalıdır. Kararlı hal BCF değeri, *plato yöntemi* kullanılarak elde edilebilir (bkz. OECD, 1996; yani ortalama balık konsantrasyonları, alım fazı sırasında üç ardışık örnekleme noktası arasında önemli ölçüde farklı değildir). Alternatif olarak, BCF kinetik modeller kullanılarak türetilir. Bu yaklaşımlardan hiçbiri kullanılmazsa, maruz kalma süresinin kararlı hal koşullarını yansıtmayacak düzeltmeyi sağlamak veya buna izin vermek için yeterince uzun olduğu savunulamazsa, çalışma güvenilmez (veya en iyi durumda sınırlı güvenilirlik) olarak kabul edilmelidir.

Kararlı hal ve kinetik BCF

Kinetik BCF (BCF_K), biyobirikim yapan maddeler için alım aşamasında genellikle gerçek bir kararlı hale ulaşılmadığından ve üç ardışık zaman noktasında balıktaki konsantrasyonlardan kararlı halin sonucu hatalı olabileceğinden, düzenleyici amaçlar için tercih edilir.

Bu yaklaşım, özellikle alım aşamasında kararlı hale ulaşamayan durumlarda faydalıdır, çünkü bu durumlarda BCF_K genellikle istatistiksel olarak daha kapsamlı bir değer sağlayacaktır. Alım birinci derece kinetiği takip ediyorsa ve BCF_{SS} gerçekten kararlı hal verilerine dayanıyorsa, her iki yöntem de prensipte aynı sonuca götürmelidir. BCF_K , BCF_{SS} değerinden önemli ölçüde farklıysa, bu, alım aşamasında kararlı hale ulaşılmadığının açık bir göstergesidir. Bunun yanı sıra, BCF_{SS} değerini büyüme için düzeltmek için kararlaştırılan bir yöntem bulunmadığından, BCF_{SS} balık büyümesi için düzeltilemez. Test sırasında balık kütleindeki artış, büyüyen balıklarda test maddesi konsantrasyonunda azalmaya (= büyüme seyrelmesi) neden olur ve dolayısıyla BCF, herhangi bir düzeltme yapılmazsa olduğundan düşük tahmin edilebilir. Büyüme seyrelmesi hem BCF_{SS} hem de BCF_K değerini etkileyebilir ve bu nedenle, test sırasında balık büyümesi önemliyse, BCF_K büyüme seyreltmesi için (BCF_{Kg}) hesaplanmalı ve düzeltilmelidir (bu özellikle yavru gökkuşuğu alabalığı gibi hızlı büyüyen yavru balıklar için önemlidir). Alım ve/veya eliminasyon aşamalarının birinci dereceden olmayan/iki fazlı olarak görünmesi durumunda, sonuçların güvenilir olarak kabul edilip edilemeyeceğine ve/veya duruma göre test sonuçlarının herhangi bir bölümünün kimyasal güvenlik değerlendirmesi için hala kullanılıp kullanılmayacağına veya yeni bir testin yapılması gerekip gerekmediğine özellikle dikkat edilmelidir.

Düzeltilme faktörleri

Hidrofobik maddelerin birikimi genellikle organizmanın lipid içeriğinden güçlü bir şekilde etkilenir. Balık lipid içeriği türe, mevsime, konuma ve yaşa göre değişir ve vahşi ortamda ağırlıkça yaklaşık %0,5 ila %20 arasında veya daha fazla değişebilir (örn. Hendriks ve Pieters, 1993).

Dolayısıyla lipid içeriğine normalizasyon, farklı türler için ölçülen BCF değerlerini karşılaştırırken veya belirli organlar için BCF değerlerini tüm vücut BCF değerlerine dönüştürürken veya daha yüksek kademeli modelleme için değişkenliği⁴ azaltmanın bir yoludur.

İlk adım, balıktaki bağıl yağ içeriğini kullanarak yüzde lipid bazında BCF değerini hesaplamak ve ardından sabit bir tüm vücut lipid içeriği varsayılarak bir balık için tüm vücut BCF değerini hesaplamaktır. Bununla birlikte, balıkların lipid içeriği ayrı ayrı rapor edilirse veya çalışmanın birkaç aşaması için lipid içerikleri bildirilirse, BCF hesaplanmadan önce varsayılan lipid içeriğine lipid normalizasyon yapılması daha uygundur (örn. kararlı hal veya kinetik parametreler normalize verilerden belirlenir).

%5'lik bir varsayılan değer, OECD Test Rehberi 305 içerisinde kullanılan küçük balıkların ortalama lipid içeriğini temsil ettiği için en yaygın şekilde kullanılır (Pedersen ve ark., 1995; Tolls ve ark., 2000). Genel olarak, bu varsayılan lipid temelinde ifade edilen en yüksek geçerli yaş ağırlık BCF değeri, zararlılık ve risk değerlendirmesi için kullanılır. BCF değerlerinin tüm vücut dışındaki doku tiplerinde (örneğin karaciğer) belirtildiği durumlarda, dokuya özel BCF değerleri lipid içeriğine normalize edilip, farmakokinetik değerlendirmelere göre tüm vücut BCF değerine dönüştürülmedikçe sonuçlar kullanılamaz.

Lipidin, birikimin ana ortamı olmadığı durumlar dışında (örn. inorganik maddeler, belirli perflorlu bileşikler, vb.), verilerin mevcut olduğu durumlarda lipid normalizasyonu yapılmalıdır. Hem OECD Test Rehberi 305 hem de ASTM E1022-94, kullanılan test balığındaki lipid içeriğinin belirlenmesini gerektirir. Balık lipid içeriği verileri test raporunda sağlanmadıysa, ilgili bilgiler ayrı olarak mevcut olabilir (örn. test rehberinde veya önemli ölçüde belirsizlik olsa da başka literatür kaynaklarında, çünkü lipid içerikleri seçilen türler için ve hatta aynı laboratuvardan aynı bireyler arasında değişebilir). Balık lipid içeriği hakkında herhangi bir bilgi mevcut değilse, BCF'nin doğrudan mevcut yaş ağırlık verilerine dayanılarak kullanılması gerekir ve bunun işaret ettiği büyük belirsizlik kabul edilir.

Nicel yapı aktivite ilişkilerinin genellikle BCF değerlerini yalnızca yaş ağırlık temelinde tahmin ettiği unutulmamalıdır. Bunun bir istisnası, ilgili yerlerde farklı trofik seviyeler ve BCF değerleri için BAF değerlerini özel olarak hesaplayan (üst, orta ve alt trofik seviye için lipid içeriği sırasıyla %10.7, %6.85 ve %5.98), EPIWIN, BCFBAF içerisine dahil edilmiş Arnot-Gobas yöntemidir. Bu modelden elde edilen sonuçları kullanırken, sonuçların standart %5 lipid içeriğine göre normalizasyonuna da ihtiyaç vardır. Diğer nicel yapı aktivite ilişkileriyle tahmin edilen değerler için herhangi bir lipid düzeltmesinin gerekli olup olmadığını belirlemek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Büyüme seyrelmesi, bir organizmanın büyümesine bağlı olarak meydana gelebilen dahili test maddesi konsantrasyonundaki düşüşü ifade eder (bu, BCF değerinin, balıkların büyümediği bir durumdan kaynaklanabilecek şekilde olduğundan az tahmin edilmesine yol açabilir). Yavaş eliminasyon kinetiğine sahip maddelerle bir test süresi boyunca büyüme kapasitesine sahip küçük (yavru) balıklar (örn. gökkuşuğu alabalığı, mavi solungaçlı güneş balığı ve sazan) için özellikle önemlidir (örn. Hendriks ve ark., 2001).

⁴ Lipidin özütlenme (örneğin, kloroform kullanılarak özütlenme, çözücü olarak heksan kullanılmışsa aynı numuneden bölümler için farklı miktarlar verir) ve ölçülme (örn. kolometrik ve gravimetrik prosedürler) şekline bağlı olarak bazı kalıntı değişkenlikler kalacaktır. Ayrıca, lipidlerin test popülasyonunun bir alt numunesinde mi yoksa her balıktan bir parça için mi belirlendiği bir fark yaratır. Bu nedenle hangi lipid tayin yönteminin kullanıldığını bilmek önemli olabilir.

Büyüme seyrelmesi, eliminasyon aşamasında büyüme hızı ölçülerek hesaba katılabilir (örneğin, test organizmalarının zaman içindeki ağırlığı izlenerek). Üstel bir büyüme hızı sabiti (k_g) genellikle zamana karşı doğal log (ağırlık) grafiğinden türetilir. Büyümeye göre düzeltilmiş bir eliminasyon hızı sabiti daha sonra büyüme hızı sabitini toplam eliminasyon hızı sabitinden (k_2) çıkararak hesaplanabilir. Dolayısıyla:

$$\text{büyümeye göre düzeltilmiş BCF} = k_1 / (k_2 - k_g)$$

burada k_1 , sudan alımın temizlenmesidir [hız sabiti] (L/kg/gün) k_2

eliminasyon hızı sabitidir (gün^{-1})

k_g büyüme hızı sabitidir (gün^{-1})

Açıktır ki, k_g , k_2 ile aynı derecede ise, büyüme düzeltmesinin etkisi önemli olacaktır.

Daha eski balık biyobirikim çalışmaları için, büyüme hakkında bilgi mevcut olmayabilir. Bu durumda, kanıt ağırlığının değerlendirilmesinde çalışmaya ne kadar ağırlık verilmesi gerektiğini belirlemek için, büyümenin sonuçlar üzerindeki muhtemel öneminin bir değerlendirmesi yapılmalıdır. OECD Test Rehberi 305'te (paragraf 32) belirtildiği gibi yavru balıklar, OECD Test Rehberi 305'te test edildikleri yaşam aşamasında (ve boyutlarında) hızlı büyüyebilirler. Küçük Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) buna bir örnektir. Aksine, Zebra balığı (*Danio rerio*) gibi balıklar genellikle yetiştirilmiştir ve bu nedenle önemli ölçüde daha yavaş büyürler (örn. Brooke ve Crookes, 2012'deki bir analiz incelenebilir). Büyüme verilerinin yokluğunda, hızlı büyüyen bir balıktan türetilen BCF değerindeki belirsizlik, yavaş büyüyen bir balığinkinden daha büyük olacaktır ve bu, yasal bir eşik değerine yakın sonuçlar için önemlidir. Genel olarak, büyüme verilerinin mevcut olmadığı balık biyobirikim verilerinin kullanımına yönelik herhangi bir yaklaşımın, sonuç için gerekçelendirme ile vaka bazında değerlendirilmesi gerekir.

Balık beslenme çalışmaları

Beslenme çalışmaları dikkatli bir değerlendirme gerektirir ve özellikle böyle bir çalışmadan elde edilen verileri değerlendirirken aşağıdaki noktalar dikkate alınmalıdır:

- Pozitif bir kontrol kullanılmış mı ve veriler kabul edilebilir mi?
- Analizden önce balığın bağırsakları çıkarılmış mı? Bağırsaklar bazen sindirilmemiş gıda ve dolayısıyla test maddesi içerebilir, bu da zayıf şekilde asimile edilmiş veya yüksek oranda metabolize edilmiş maddeler için hatalı (ihtiyati olsa da) değerlerin oluşmasına neden olur.
- Gıdada aşırı yüksek madde konsantrasyonlarının kullanılması nedeniyle gıdanın lezzetli olmadığını gösteren herhangi bir kanıt var mı? Bu, çalışma sırasında balığın büyümesi incelenerek değerlendirilebilir.
- Kimyasal eklenmiş gıdada test maddesi homojen mi? Bunun için diğer kriterler OECD Test Rehberi 305'in 113. paragrafında verilmiştir.

Beslenme çalışması, beslenmedeki kimyasal emilim verimliliği ve tüm vücut eliminasyon hızı sabiti (k_2) ve sulu maruz kalma yoluyla bunun mümkün olmadığı maddeler için yarılanma ömrü dahil olmak üzere biyomagnifikasyon potansiyelini değerlendirme potansiyelini geliştiren bir dizi önemli veri sağlar.

OECD Test Rehberi 305'in Ek 8'i, beslenme yoluyla maruz kalma çalışmasında toplanan verilerden geçici BCF değerleri tahmin etmek için halihazırda mevcut olan bazı yaklaşımları özetlemektedir. Bu hesaplama, bir model tahmini alım hızı sabitine (k_1) ve beslenme biyobirikim çalışmasından belirlenen temizlenme hızı sabitine (k_2) dayanmaktadır. PBT değerlendirmesi için, beslenme deneysel verilerinin Ek 13'de ana hatları verilen BCF kriterleriyle karşılaştırılmak üzere geçici BCF değerlerine çevrilmesi mümkündür. Bununla birlikte, k_1 tahminindeki belirsizlik nedeniyle hesaplanan bu BCF değerlerinin deneysel BCF değerlerinden daha belirsiz olabileceği unutulmamalıdır. Özellikle k_1 , sudan kimyasal aktarma verimliliği (örn., zar geçirgenliği veya emilim verimliliği), balığın fizyolojisi (vücut boyutu, solunum hızı) ve deneysel koşullar (örn., çözünmüş oksijen konsantrasyonları, su sıcaklığı, iyonik maddeler için solungaç suyu pH değeri) ile ilgili kimyasal özelliklerin bir fonksiyonudur. Bu nedenle, k_1 'in madde ve deneyin koşulları için doğru ve uygun bir şekilde tahmin edildiği varsayıldığında, bir beslenme testinden gelen geçici BCF değerleri belirlenebilir. Bununla birlikte, beslenme testinde her zaman başka ölçütler de mevcut olduğundan, hesaplanan BCF değerleri kanıtların bir parçası olarak kabul edilmeli ve PBT değerlendirmesinde sonuç çıkarmak için tek değer olarak kullanılmamalıdır.

Zayıf çözünür polar olmayan organik maddeler için birinci derece alım ve temizlenme kinetiği varsayılır ve daha karmaşık kinetik modeller yalnızca birinci dereceden kinetiği takip etmeyen maddeler için kullanılmalıdır. Bir beslenme biyobirikim çalışmasından sulu BCF değerini hesaplamak için gereken bir k_1 değerini tahmin etmek için çeşitli modeller mevcuttur. k_1 modellerinin sonuçlarında bazı farklılıklar olmasına ve modellerin ağırlıklı olarak nötr organik maddelerle sınırlı olmasına rağmen, sunulan 13 model, hidrofobik potansiyel PBT maddelerinin bazı örnekleri için 2.7 kat aralığını kapsamaktadır (Crookes ve Brooke, 2011). k_1 modellerinin ve bunların uygulanabilirlik alanlarının belirsizliği (örneğin çoğunlukla nötr organik maddelerle sınırlı, ancak bazı zayıf asidik veya bazik maddeler dahil, 3.5'in üzerinde log Kow vb.) yukarıda belirtilen faktörlerin dikkate alınmasını gerektirir. Sijm (1995) modelinden OECD Test Rehberi 305 içerisinde bahsedilmektedir ve bu noktada makul bir ilk tercih sağlayabilir. Bu model, aşağıdaki allometrik ilişki ile k_1 'i tahmin etmek için balık ağırlığını (g cinsinden ağırlık (W)) kullanır: $k_1=520 \cdot W^{-0.32}$. Buna göre, hiçbir model diğerlerine göre önerilemez ve sonuçlar, varsayılan uygulanabilirlik alanlarına referansla dikkatle kullanılmalıdır. Bir beslenme BMF çalışmasından BCF türetme yöntemi kullanılırsa, bir dizi BCF vermek üzere mevcut tüm modellere göre k_1 tahminleri türetilmelidir.

Temizleme aşamasından bir BCF hesaplamasının yanı sıra, testten türetilen laboratuvar BMF değeri, bir kıyaslama uygulamasında bilinen biyobirikim potansiyeline sahip maddeler için laboratuvar BMF değerleri ile karşılaştırılabilir. Örneğin, bu tür bir yaklaşım sazanla yapılan beslenme yoluyla biyobirikim çalışmaları için tanımlanmıştır (Inoue, Hashizume ve ark. 2012). Bu düzenekte test edilen dokuz bileşik için BCF ve BMF arasındaki regresyona dayanılarak, %5 lipid içeriğine normalize edilmiş 5000 L/kg BCF değerinin 0.31 kg gıda/kg balık beslenme testinden lipide normalize edilmiş bir BMF değerine karşılık geldiği gösterilmiştir ve 2000 L/kg BCF değerinin 0.10 kg gıda/kg balık BMF değerine karşılık geldiği gösterilmiştir.

BCF değeri 5000 L/kg'dan yüksek olan beş maddeden ikisinin BMF değeri 1'in üzerinde olmuştur. Gökkuşuğu alabalığı ile perflorlu bileşikler için sulu ve beslenme yoluyla biyobirikim çalışmalarından farklı bir kıyaslama elde edilebilir (Martin ve ark., 2003a, b). 5000 L/kg BCF değeri, 0.49 kg gıda/kg balık beslenme testinden bir BMF değerine karşılık gelir ve 2000 L/kg BCF değeri, 0.36 kg gıda/kg balık BMF değerine karşılık gelir. BCF > 2000 olan üç maddeden birinin BMF değeri 1.0 iken diğer ikisi önemli ölçüde daha düşük BMF değerlerine sahiptir. Bu iki farklı örnek, BCF ile BMF arasında tek tip bir ilişki olmadığını göstermiştir. Ayrıca çalışmalar, bir OECD 305 beslenme yoluyla biyobirikim testinden elde edilen bir BMF değerinin bile <1 olarak bulunduğunu vurgulamaktadır, Maddelerin Ek 13 BCF kriterlerine göre (çok) biyobirikimli olmadığına karar vermek için iyi bir ayırt edici olarak kabul edilemez. BCF verileri (ve kriterleri) ile BMF verileri (ve kriterleri) arasındaki farklılıkların kütle dengesi modelleri ve daha büyük veri kümeleri ile daha fazla incelenmesi, gelecekte iki biyobirikim ölçütü ve bunların ilgili biyobirikim kriterleri arasındaki ilişkiler hakkında daha fazla bilgi sağlayabilir. Beslenme BMF değerlerini biyobirikim potansiyeli bilinen maddeler için BMF değerleri ile karşılaştırmak için kıyaslama kullanılıyorsa, bu BMF değerlerinin benzer koşullar altında elde edildiğinden (veya normalize edildiğinden) emin olunmalıdır.

Sonuçların yorumlanmasına ilişkin ek bilgiler, OECD Test Rehberi 305 balık biyobirikim test rehberine eşlik edecek bir OECD rehber dokümanında bulunabilir.

Sonuç olarak, OECD Test Rehberi 305 III: Beslenme Yoluyla Maruz Kalma Biyobirikim Balık Testi, biyobirikim değerlendirmesinde tartışılması gereken bir dizi değerli bilgi sağlar. Test rehberinin 167. Paragrafı, BMF değerleri, madde asimilasyon verimliliği ve genel temizlenme oranı sabiti dahil olmak üzere biyobirikim değerlendirmesi için rapor edilmesi ve dikkate alınması gereken çalışmadan elde edilen tüm ilgili ölçülen ve hesaplanan verileri listeler. Çalışma sonuçlarını yorumlarken, geçici olarak hesaplanmış BCF değerleri ve testten elde edilen k₂ ve BMF değerini bilinen biyobirikim potansiyeli olan diğer maddelerle karşılaştırmak için bir kıyaslama alıştırması da biyobirikim değerlendirmesi için yararlı kanıtlar sağlar ve raporlanması tavsiye edilir. k₂ (veya yarı ömür) değerinin kendisi biyobirikim potansiyelinin değerlendirilmesi için faydalı olabilir (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.11).

Omurgasız testleri

Standart yöntemler kullanılarak elde edilen veriler tercih edilir. Balık biyobirikim verilerinin değerlendirilmesinde de benzer ilkeler geçerlidir (örn. test konsantrasyonu önemli etkilere neden olmamalıdır; kararlı hal koşulları kullanılmalı, maruz kalma kaplarındaki sulu konsantrasyon korunmalı ve maddenin suda çözünürlüğünün altında olmalıdır; radyoanaliz kullanılıyorsa, metabolitlerin katkısının değerlendirilebilmesi için ana bileşik analizi ile desteklenmelidir, vb.). Dikkate alınacak ek faktörler aşağıda belirtilenleri içerir:

- Genel olarak, BCF değerinin lipide normalize edilmesine izin verecek hiçbir veri mevcut olmayacaktır ve bu nedenle BCF, normalde tüm vücut yağ ağırlığı temelinde ifade edilecektir. Bununla birlikte, herhangi bir yeni laboratuvar omurgasız biyobirikim testi için, bir lipid ölçümü yapılmalıdır.

- Deniz türleri ile yapılan testler için, test maddesinin çözünürlüğü tuzlu suda, özellikle iyonlaşmışsa (nötr organik maddeler için fark sadece yaklaşık 1.3 kattır) saf sudakinden önemli ölçüde farklı olabilir.
- Çift kabuklular toksinlerin varlığında beslenmeyi durdurur (örneğin midyeler beslenmeye devam etmeden önce üç haftaya kadar kapalı kalabilir (Claudi ve Mackie, 1993)). Bu nedenle, maddenin akut toksisitesi bilinmeli ve test raporu, kapanmanın meydana gelip gelmediğini belirtmelidir.
- Çoğu test türü tanecikler (mikroorganizmalar dahil) veya tüm çökelti ile beslenmeye meyilli olduğundan, özellikle hidrofobik maddeler için test sistemi dengede değilse maruz kalma konsantrasyonlarının değerlendirilmesinin dikkatli bir şekilde ele alınması gerekebilir. Bağırsağın temizlenmesine izin verilmiyorsa, doku konsantrasyonları da olduğundan fazla tahmin edilebilir.
- Bentik organizmalarla yapılan tüm çökelti testleri, soğurma davranışını da yansıttığı için biyobirikim potansiyeli potansiyelinin yanıltıcı bir göstergesi olabilen bir B(S)AF sağlama eğilimindedir. Daha iyi bir gösterge, kolay çözünen (biyoyararlanımlı) çökelti gözenek suyu konsantrasyonuna dayanan BCF olacaktır. İdeal olarak, bu doğrudan analitik ölçüm kullanılarak yapılmalıdır (SPME lifleri gibi numune alma cihazlarını içerebilir). Analitik veri mevcut değilse, gözenek suyu konsantrasyonu uygun dağılım katsayıları kullanılarak tahmin edilebilir, ancak bunun sonuca ek belirsizlik getirebileceği unutulmamalıdır.
- Birçok çalışma, siyah karbonun tanecik soğurma kuvvetini ve dolayısıyla bir maddenin biyoyararlanımını önemli ölçüde etkileyebileceğini göstermiştir (Cornelissen ve ark., 2005). Gözlemlenen siyah karbon dağılım katsayıları, organik karbon dağılım katsayılarını iki basamağa kadar aşar. Maruz kalma sisteminin doğal çökeltileri içerdiği verileri yorumlarken, serbest çözünen fazdan maddenin biyobirikim potansiyelinin olduğundan daha az tahmin edilmesini önlemek için siyah karbon dağılımının olası etkisini hesaba katmak önemlidir.
- Tek hücreli algler, *Dafniya* ve mikro organizmalar gibi küçük organizmalardaki görünür birikim verileri, gerçekte olduğundan daha yüksek biyokonsantrasyon tahminlerine yol açan hücre veya vücut yüzeylerine tutunmayla karıştırılabilir (örneğin, katyonik maddeler negatif yüklü alg hücrelerine tutunabilir). Yüzeğe tutunma ayrıca birinci dereceden kinetiklerden belirgin bir sapmaya neden olabilir ve daha büyük organizmalara kıyasla önemli ölçüde daha büyük yüzey/hacim oranları nedeniyle küçük organizmalar için önemli olabilir.

Çökelti organizma toksisite testlerinden elde edilen biyobirikim verilerinin geçerliliği duruma göre değerlendirilmelidir, çünkü testin süresi kararlı hale (özellikle hidrofobik maddeler için) ulaşmak için yeterli olmayabilir. Ayrıca, gözlemlenen herhangi bir toksisite (örneğin ölüm oranı) sonuçların yararlılığını sınırlayabilir.

R.7.10.4.2 Sucul biyobirikim hakkında test dışı veriler

(Q)SAR modelleri

SORUMLULUK REDDİ: Bu bölüm, bu belgenin ilk versiyonunun yayınlanmasından bu yana güncellenmediği için (Q)SAR modellerinin kullanımına ilişkin en son bilgileri içermemektedir.

QSAR sonuçlarının uygunluğunun değerlendirilmesi, farklı QSAR yöntemleri ve modellerinin genel bir değerlendirmesine dayanmalıdır. Tek bir nicel yapı aktivite ilişkisinin yeterliliğinin değerlendirilmesi, aşağıda açıklandığı gibi iki ana adım gerektirir. Bu kavramlar ayrıca Bölüm R.6.1'de genel olarak ele alınmıştır.

Model geçerliliğinin değerlendirilmesi

Bir dizi çalışma, çeşitli BCF (Q)SAR modellerinin geçerliliğini değerlendirmiştir. Önemli parametreler korelasyon katsayısı (R^2 değeri), standart sapma (SD) ve ortalama hatadır (ME). SD ve ME , R^2 değerinden daha iyi yöntem doğruluğu tanımlayıcılarıdır.

Meylan ve ark. (1999), 610 iyonik olmayan bileşikten oluşan bir veri setini kullanarak, BCF ve K_{ow} arasındaki ilişkiye dayalı QSAR modelleri arasında, önerilen parça tabanlı yaklaşımlarını doğrusal (Veith ve Kosian, 1983) ve çift doğrusal (Bintein ve ark., 1993) model ile karşılaştırmıştır. Parça yöntemi, daha yüksek R^2 değeri, ancak daha önemlisi çok daha düşük SD ve ME ile gösterildiği üzere, tavsiye edilen BCF değerlerinin veri setine diğer iki yöntemden önemli ölçüde daha iyi bir uyum sağlamıştır.

Bazı çalışmalar, moleküler bağlantı indeksleri, K_{ow} ve parçalara dayalı modellerin performansını da karşılaştırmıştır (örn. Lu ve ark., 2000, Hu. ve ark., 2005).

Gramatica ve Papa (2003), BCF modellerini, Genetik Algoritma tarafından seçilen teorik moleküler tanımlayıcılara dayalı olarak moleküler bağlantı indeksi yaklaşımı ve BCFWIN modeli ile karşılaştırmıştır. Görünüşe göre daha karmaşık olan tanımlayıcıların kullanımının, geleneksel log K_{ow} yaklaşımına değerli bir alternatif olduğu gösterilmiştir.

Bireysel model tahmininin güvenilirliğinin değerlendirilmesi

Tek bir madde için bir model tahmininin güvenilirliğinin değerlendirilmesi, bir QSAR sonucunun yeterliliğinin analizinde çok önemli bir adımdır. Şu anda birkaç yöntem mevcuttur, ancak bunların hiçbiri genel güvenilirliğin bir ölçüsünü sağlamaz. Yalnızca tanımlayıcılar uygulanabilirlik alanına düştüğü için bir modelin bir madde için uygun olduğunun doğrudan varsayılması tuzağından kaçınmak önemlidir. Çeşitli hususlar dikkate alınmalı ve genel sonuç belgelenmelidir (örneğin Dimitrov ve ark., 2005b):

- Molekül ağırlığı, suda çözünürlük, uçuculuk ve iyonik ayrışma gibi ölçülen sonlanma noktasının kalitesini önemli ölçüde etkileyebilecek fiziko-kimyasal özelliklerin ön analizi.
- Moleküler yapısal alan (örneğin, maddenin parçalarının ve yapısal gruplarının her biri QSAR eğitim setinde yeterince iyi temsil ediliyor mu?).
- Mekanik alan (örneğin, madde modelin mekanik alanına uyuyor mu?).

- Metabolik alan (eğitim seti içindeki olası metabolik yollarla ilgili bilgiler, ana bileşiğe ek olarak analiz edilmesi gerekebilecek metabolitlerin tanımlanmasıyla ilgili).

Model alanını tanımlamaya yönelik bazı adımlar, modeli türetmek için kullanılan deneysel verilerin mevcudiyetine ve kalitesine, özgünlüğüne ve nihai uygulamasına bağlı olarak atlanabilir.

BCF modellerinin büyük belirsizlik aralıklarına sahip olma eğiliminde olduğu ve tahmin edilen bir değerin potansiyel aralığının rapor edilmesi gerektiği de unutulmamalıdır. $\log K_{ow} > 6$ olan maddeler için tahminler, özellikle doğrusallıktan önemli ölçüde sapıyorlarsa, dikkatli bir değerlendirme gerektirir (bkz. Bölüm [R.7.10.5](#)).

[Tablo R.7.10–2](#), kimyasal kategoriye özel bir QSAR mevcut değilse, test veya yasal amaçlarla karar vermeye yardımcı olmak için kullanılabilir yaygın olarak kullanılan bazı modelleri listeler. Kayıt ettiren, daha uygun olduklarına inanılırsa başka modeller de seçebilir. Tablo, modeller arasındaki tahminleri karşılaştırırken dikkate alınması gereken bazı önemli hususları göstermektedir.

Tablo R.7.10–2 Balık BCF değerlerini tahmin etmek için yaygın olarak kullanılan QSAR modelleri

SORUMLULUK REDDİ: Bu tablo, bu belgenin ilk versiyonunun yayınlanmasından bu yana güncellenmediği için (Q)SAR modellerinin kullanımına ilişkin en son bilgileri içermemektedir.

Model	Eğitim seti $\log K_{ow}$	Kimyasal alan	Yorumlar	Referans
Veith ve ark., 1979	1 ila 5.5	Nötr, iyonlaşmamış maddelere dayanır (toplam 55 madde).	İyonik veya kısmen iyonlaşmış maddeler ve organometalikler için uygulanabilir değildir.	Veith ve ark., 1979; EC, 2003
Değiştiri İmiş Connell	6 ila ~9.8	Esas olarak metabolize edilemeyen klorlu hidrokarbonlara dayanır (toplam 43 madde).	İddia edilen $\log K_{ow}$ aralığı dikkatli bir şekilde alınmalıdır: model, $\log K_{ow} > 6$ değeri üzerinde doğrusal olmama durumunu hesaba katar, ancak $\log K_{ow} > 8$ olduğunda güvenilir değildir. Geçmişte $\log K_{ow} > 6$ olan maddeler için kullanılmıştır, ancak diğer modeller artık daha uygundur (aşağıya bakınız).	EC, 2003
EPIWIN®	1 ila ~8	Çok çeşitli sınıflar dahildir; veri setinde 694 madde kullanılmaktadır.	Herhangi bir otomatik kimyasal sınıf ataması dikkatlice kontrol edilmelidir. Eğitim setinde maddenin alt yapılarının yeterince temsil edilip edilmediği değerlendirilir. $\log K_{ow} \sim 6$ değerinin üzerinde güvenilir olmayabilir.	Meylan ve ark., 1999

BCF _{maks}	1 ila ~8	Çok çeşitli sınıfları kapsar; hidrokarbonlar üzerindeki beslenme testlerinden alınan BCF verilerini içerir (sadece log K _{ow} <7).	Yüksek oranda hidrofobik (log K _{ow} > 6) maddeler için tercih edilen modeldir (koruyuculuk nedeniyle). BCF değerini azaltabilen faktörleri (örn. metabolizma, iyonlaşma ve moleküler boyut) açıklayabilir.	Dimitrov ve ark., 2005a
---------------------	----------	---	--	-------------------------

ECHA [Uygulamalı Rehber 5](#): Nicel Yapı Aktivite İlişkileri nasıl kullanılır ve raporlanır (Q)SAR tahminlerinin KKDİK kapsamında nasıl kullanılacağı ve raporlanacağı konusunda rehberlik sağlar. Uygulamalı Rehber ayrıca sucul türlerde biyobirikimi tahmin etmek için uygun QSAR modellerinin bir listesini de içerir ([Tablo R.7.10—1](#)).

Çapraz okuma ve kategoriler

BCF değerine dayalı çapraz okuma uygularken, hem kaynak hem de hedef maddeler için lipofiliklik ve metabolik etki merkezi olmak üzere iki önemli husus dikkate alınmalıdır.

Bir maddenin BCF değeri genellikle hidrofobikliğiyle pozitif olarak ilişkilidir. Bu nedenle, değerlendirilecek maddenin, BCF'nin mevcut olduğu analog bir maddeden daha yüksek bir log K_{ow} değerine sahip olması halinde, BCF değerinin düzeltilmesi gerekir. K_{ow} ile aynı fark faktörünün kullanılması makul bir en kötü durum tahmini olacaktır, çünkü genellikle BCF ile K_{ow} arasındaki ilişki birimden biraz daha düşüktür. Örneğin, değerlendirilecek maddenin, bir BCF değerinin mevcut olduğu bileşikten, bir fazla metil grubuna sahip olması durumunda, log K_{ow} 0.5 daha yüksek olacaktır ve çapraz okumadan tahmin edilen BCF, bilinen BCF 10^{0.5} faktörü ile çarpılarak elde edilir. Prensipten, bu düzeltme, log K_{ow} değerindeki fark sınırlı olduğu sürece makul tahminler vermelidir. Bununla birlikte, bir etil grubunun eklenmesi halihazırda log K_{ow} değerinde birden fazla log birimlik bir farka veya BCF değerinde 10 faktörüne yol açar. Değerlendirilecek madde, BCF değerinin mevcut olduğu maddeden *daha düşük* bir log K_{ow} değerine sahipse, değeri çok aşağıya doğru ayarlamamaya dikkat edilmelidir.

Maddenin bir organizma tarafından alınmasının engellenebileceği kadar büyük bir moleküler boyutu varsa (bkz. Bölüm [R.7.10.3.4](#)), farklı bir yaklaşım izlenmelidir. Bu durumda; log K_{ow} değerinde bir artışa yol açan fazladan bir yer değiştirme birimi (substituent) eklenmesi, mutlaka daha yüksek bir BCF değerine yol açmaz. Aksine, böyle bir ekleme, maddenin organizma tarafından daha zor şekilde alınmasına neden olabilir ve bu da daha yüksek bir BCF değeri yerine daha düşük bir değerle sonuçlanabilir. Bu gibi durumlarda çapraz okuma için ideal bileşik, biraz daha küçük moleküler boyuta sahip yapısal olarak benzer bir bileşiktir.

Diğer bir önemli husus, balıkların maddeleri daha polar bileşiklere metabolize etme kabiliyetidir, bu da daha düşük bir BCF değerine yol açar (bazı durumlarda metabolizma, daha fazla biyobirikim yapan maddelerin oluşumuna yol açabilir). Moleküler yapıdaki küçük değişiklikler önemli olabilir. Örneğin, metabolik etkinin merkezine bir yer değiştirme birimi (substituent) yerleştirilmesi durumunda metabolizma engellenebilir. Çapraz okuma uygulanırsa, değerlendirilecek madde üzerinde bu tür bir yer değiştirme birimi (substituent) varlığının, BCF değerinin bilindiği maddeye kıyasla büyük ölçüde azalmış bir metabolizmaya yol açabileceği bilinmelidir. Sonuç olarak, BCF değeri olduğundan az tahmin edilebilir.

BCF değerinin mevcut olduğu analog madde için metabolizma göstergeleri varsa, değerlendirilecek maddede ve türde aynı metabolizma potansiyelinin mevcut olup olmadığı incelenmelidir.

Metabolizmanın bir göstergesi, ölçülen BCF değerlerini, log K_{ow} değerine dayalı nicel yapı aktivite ilişkilerinden tahmin edilen değerlerle karşılaştırarak elde edilebilir. Bu nicel yapı aktivite ilişkileri, güçlü bir şekilde metabolize edilmeyen nötr organik bileşiklere dayanmaktadır. Bir maddenin BCF değerinin nicel yapı aktivite ilişkisinden gelen tahminin önemli ölçüde altında olduğu görülüyorsa (örneğin, bir log biriminden fazla), bu, bileşiğin metabolizması için güçlü bir göstergedir. Metabolizmanın diğer göstergeleri, *in vitro* yöntemler (bkz. Bölüm [R.7.10.3.1](#)) ve memelilerden elde edilen çıkarımlar (bkz. Bölüm [R.7.10.3.4](#)) ile sağlanabilir.

R.7.10.4.3 Sucul biyobirikim üzerine saha verileri

Saha çalışmalarından elde edilen biyobirikim verileri, balıklar veya suda yaşayan omurgasızlarla yapılan laboratuvar testlerinde ölçülenlerden farklı olabilir. Bunun nedeni, laboratuvar testlerinin kararlı hal koşulları altında veri sağlamak için tasarlanması ve genellikle sadece su maruz kalmaları, test türlerinin çok az büyümesini veya hiç büyümemesini, organizmada ve gıdasında tutarlı bir lipid içeriğini, sabit madde konsantrasyonlarını ve sabit sıcaklığı içermesidir.

Bu koşullar, gıda çeşitliliği ve bulunabilirliğindeki farklılıklar, rekabet, göç vb. gibi ek etkilerin de olduğu saha ortamlarında gerçekleştirilemez. Saha biyozileme verileri bazen mevcut olabilir. Bu, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.11, Bölüm R.11.4.1.2 içerisinde daha ayrıntılı şekilde verilmiştir.

Mezokozmlar veya kafeslenmiş hayvanlarla yapılan çalışmalarda ölçülen biyobirikim faktörlerini yorumlarken dikkatli olunmalıdır çünkü daha büyük sistemlerde meydana gelen anahtar çevresel süreçler bilinmiyor veya raporlanmamış olabilir. Örneğin, bir mezokozmdaki maruz kalma konsantrasyonlarının gözlem boyunca kararlı olup olmadığı veya gözlem döneminin başlamasından önce biyobirikim gerçekleşmiş olabileceği doğrulanmalıdır. Ayrıca, çökelti-su dengesizliği, numune alınan organizmalardaki madde biyoyararlanımını ve alımını etkileyecek olan su sütunu derinliği ve birincil üretimden etkilenebilir. Benzer şekilde, kafesteki hayvanlar çevrede vahşi hayvanlarla aynı etkileşimlere sahip olmayabilir, bu da test maddesinin yiyecek veya suda farklı alımına yol açar. Ayrıca kafeslenmiş hayvan çalışmaları için, organizmaların kararlı hale yaklaşabilmesi için yeterli süreye izin verilmesi zorunludur (örn. Burkhard ve ark., 2003 ve 2005).

Saha B(S)AF değeri belirlemesinin kesinliği veya belirsizliği, büyük ölçüde toplanan ve analiz edilen toplam numune sayısı ile tanımlanır. Pratik nedenlerden ötürü, ölçümlerin kesinliği, numune toplama ve analiziyle ilgili maliyetlerle dengelenebilir ve çoğu durumda, analitik analizlerle ilişkili maliyetleri sınırlamak için numunelerin havuz halinde bir araya toplanması gerekir. Çok az bilgi toplamak ve bildirmek, çok fazla bilgi vermektense çok daha kötüdür. Verilerin amaçlanan amaca uygunluğu kalitelerine bağlıdır ve biyobirikimi ölçmek için kullanılacak bir saha çalışmasından elde edilen veriler ideal olarak aşağıdakileri raporlamalıdır:

- numune alma tasarımı (saha seçimi, mekansal çözünürlük, belirleme sıklığı, vb.) ve numune alma metodolojisinin, numune işleme, numune saklama ve teslim koşulları ve kararlılığı, kontaminasyonu azaltmak için atılan adımlar ve kullanılan tüm ekipmanın ayrıntıları;

- analitik yöntemlerin açıklaması (analizde, laboratuvar ön işlemlerinde, standart referans materyallerinde vb. sahada körlerin, prosedürel ve araçsal körlerin kullanımı dahil) ve ayrıca kalite kontrol prosedürlerinin kanıtı;
- madde konsantrasyonlarındaki mekansal ve zamansal dereceler - özellikle, biyobirikim faktörlerini elde etmek için kullanılan numunelerin aynı zamanda aynı yerden toplanmasına ve numune sahasının yerini değiştirmek için yeterli ayrıntı sağlanmasına dikkat edilmelidir. Organizmanın yuvasının menzili dikkate alınmadan rastgele alınan numuneler, büyük olasılıkla organizmalardaki madde kalıntıları için zayıf tahmin kabiliyetine sahip olacaktır çünkü su (ve/veya çökelti) verileri organizmanın gerçek maruz kalmasını temsil etmeyecektir (Burkhard, 2003) ;
- sıcaklık, tuzluluk, su akışının yönü ve hızı, su/çökelti derinliği ve fiziko-kimyasal özellikler dahil olmak üzere sahanın fiziksel ayrıntıları (örn. parçacık halinde organik karbon ve çözünmüş organik karbon seviyeleri)
- tür, cinsiyet, boyut, ağırlık, lipid içeriği ve yaşam öyküsü modeli (örn. göç, beslenme ve besin ağı yapısı (azot veya karbon izotopları üzerindeki ölçümler (Kiriluk ve ark., 1995) ve bileşim kullanılarak belirlenebilir) dahil olmak üzere analiz edilen organizmaların ayrıntıları. Yerleşik türler için numune alma oldukça basit olmalıdır. Göçmen türler, BAF değerini hesaplamak için hangi gıda, çökelti veya su örneğinin kullanılması gerektiğini belirlemede özel zorluklar ortaya çıkarabilir;
- tanecik maddeye soğurma katsayılarının büyüklüğünün değerlendirilmesini sağlayan bilgi, örneğin soğurmanın organik karbon veya siyah karbon tarafından kontrol edilip edilmediği;
- veri işleme, istatistiksel analiz ve sunumun ayrıntıları; ve
- saha verilerini anlamak veya yorumlamak için önemli olan diğer ayrıntılı bilgiler.

Kuzey Kutbu İzleme ve Değerlendirme Programı (AMAP, 2001) izleme verilerinin kalitesinin değerlendirilmesiyle ilgili öneriler yayınlamıştır ve yalnızca veri toplama sürecinin tüm veya bazı aşamaları için belgelenmiş kalite güvencesine sahip çalışmalardan elde edilen verilerin mekansal ve zamansal eğilimleri belirlemek ve diğer veri yorumlama türleri için kullanılması gerektiğini önermiştir. Kalite güvence prosedürleri hakkında hiçbir bilgi mevcut değilse, ancak sonuçlar aynı numune türlerine ilişkin diğer raporlarla tutarlıysa, veriler bağlı eğilimleri göstermek için kullanılabilir (dahili olarak tutarlı oldukları varsayılarak). Kalite güvence kanıtı yoksa veya veriler diğer çalışmalarla uyumsuzsa, sonuçlar kullanılmamalıdır. İlave olarak, genellikle durum bazında uzman görüşü gerekecektir.

Burkhard (2003), balıklar için ölçülen B(S)AF değerlerindeki belirsizliği yönlendiren temel faktörleri ve ilkeleri değerlendirmek ve hangi örnekleme tasarımlarının bu belirsizlikleri en aza indirdiğini belirlemek için bir dizi modelleme temsili gerçekleştirmiştir. Su sütunundaki madde konsantrasyonlarının zamansal değişkenliği ve madde için metabolizma hızı ve K_{ow} , saha numune alma tasarımında baskın faktörler olarak görünmektedir.

Sudaki madde konsantrasyonlarının zamansal değişkenliğinin önemi, artan metabolizma hızı ile artar. Bunun nedeni, sudan madde alım hızının (madde metabolizmasının hızından bağımsızdır), artan metabolizma hızıyla, balıktaki toplam madde kalıntısını kontrol etmede daha önemli hale gelmesidir.

Madde konsantrasyonlarının, besin ağı yapısının ve çökelti-su sütunu konsantrasyon bölümünün mekansal değişkenliği, genel tasarım üzerinde daha az öneme sahiptir. Temsil çalışmaları ayrıca, toplanan su numunelerine kıyasla kompozit su numunelerinin alınmasının, daha yüksek K_{ow} değerine sahip maddeler için ölçülen BAF değerleriyle ilişkili belirsizliklerde azalmaya yol açtığını, daha düşük K_{ow} değerine sahip maddeler için ise BAF ölçümündeki belirsizliğin arttığını göstermiştir.

Biyomagnifikasyonla ilgili veriler (TMF, BMF veya B değerleri), lipide normalize edilmiş konsantrasyonlara dayalı olarak hesaplanmalıdır (lipid, dağılım sürecinde önemli olmadığı sürece, örneğin birçok inorganik bileşik için).

Göçmen balık, deniz memelileri ve kuş popülasyonlarından madde konsantrasyonları mevcut olabilir. Uydu veya radyoaktif işaretli popülasyonlardan numune alma son derece nadir olduğundan, bilinen göç yollarına dikkat etmek; bu geçmiş zaman çizelgeleri boyunca numune alındığında, kirlenici maddelere maruz kalma ve biyobirikim döngüleri ve yağ depolarından kirlenici maddelerin salımındaki eğilimleri belirlemek açısından önemli olabilir (Weisbrod ve ark., 2000 ve 2001). Balıklar ve omurgasızlar için sık sık olduğu gibi, numune alınan popülasyonun göç geçmişi bilinmiyorsa, hayvanların toplama yerinde beklenen süresi hakkında bilinenleri belirtmek, birden çok popülasyondan veya bölgeden BAF değerleri karşılaştırılırken aydınlatıcı olabilir.

R.7.10.4.4 Biyobirikim potansiyelinin diğer göstergeleri

Organik maddeler için deneysel olarak elde edilen yüksek kaliteli K_{ow} değerleri tercih edilir. Bu tür bir veri bulunmadığında veya ölçülen verilerin doğruluğu hakkında makul şüphe olduğunda (örneğin analitik yöntemler veya yüzey aktif madde özellikleriyle ilgili sorunlar nedeniyle), $\log K_{ow}$ değeri doğrulanmış nicel yapı aktivite ilişkileri kullanılarak hesaplanmalıdır. Bu mümkün değilse (örneğin, madde modelin alanına girmediğinden), ayrı ayrı n -oktanol ve suda çözünürlüklere dayalı bir tahmin mümkün olabilir. Aynı madde için birden fazla $\log K_{ow}$ verisi mevcutsa, herhangi bir farklılığın nedenleri bir değer seçmeden önce değerlendirilmelidir. Genel olarak, geçerli en yüksek değer öncelikli olmalıdır.

Daha fazla ayrıntı, [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.7a Bölüm R.7.1'de verilmektedir.

Memeli toksikokinetik verilerinin değerlendirilmesi ile ilgili daha fazla rehberlik Bölüm [R.7.10.15](#) ve [R.7.12](#)'de verilmektedir.

R.7.10.4.5 Sucul biyobirikim için maruz kalma hususları

KKDİK Ek 9 Sütun 2, sucul ortamın doğrudan ve dolaylı maruz kalmasının olası olmaması durumunda (düşük maruz kalma oranından ziyade düşük olasılık anlamına gelir) bir çalışmanın gerekli olmadığını belirtir. Maruz kalmaya dayalı feragat fırsatları bu nedenle sınırlı olacaktır.

Ayrıca, kayıt ettirenin ilgili mevcut bilgileri kullanarak PBT/vPvB değerlendirmesinde (i) ("Madde PBT ve vPvB kriterlerini karşılamıyor") veya (ii) ("Madde PBT veya vPvB kriterlerini karşılıyor") şeklinde kesin bir sonuca varamaması durumunda, testten kaçınmanın (veya diğer gerekli bilgileri oluşturmanın) tek yolu, maddeye "*PBT veya vPvB gibi*" muamele etmektir (ayrıntılar için bkz. Bölüm R.11). Biyobirikim, bir maddenin zararlılık ve davranışının değerlendirilmesinin çok temel bir parçası olduğu için, yalnızca istisnai durumlarda maruz kalma gerekçesiyle daha fazla değerlendirmeden çıkarılabilir. Bu, örneğin, yaşam döngüsünün herhangi bir aşamasında çevreye salım olmadığına güvenilir bir şekilde (ölçüm veya diğer kanıtlarla) gösterilebildiği durumları içerebilir. Bir örnek, herhangi bir süreç atığının yakılmasıyla birlikte sıkı şekilde muhafaza altında işlenen, tesisle sınırlanmış bir kimyasal ara ürün olabilir. Ürün maddeyi safsızlık olarak içermez ve ortamdaki maddeye geri dönüştürülmez. Potansiyel kayıplar yalnızca süreç ekipmanının temizlenmesinden kaynaklanır ve temizliğin (ve atığın atılmasının) sıklığı ve verimliliği dikkate alınmalıdır.

Biyobirikim verilerine yalnızca risk değerlendirmesini iyileştirmek için ihtiyaç duyuluyorsa (yani sınıflandırmayı veya PBT değerlendirmesini etkilemeyecekse), bir omurgalı testinden daha fazla veri toplama ihtiyacına karar vermeden önce diğer maruz kalma faktörlerinin dikkate alınması gerektiği unutulmamalıdır. Örneğin, salımlar veya çevresel davranış (kalıcılık gibi) hakkında daha fazla bilgi faydalı olabilir.

R.7.10.4.6 Sucul biyobirikim için kalan belirsizlik

Hem BCF hem de BMF ideal olarak ölçülen verilere dayanmalıdır. Aynı madde, organizma, yaşam aşaması, test süresi ve koşul için birden fazla BCF verisinin mevcut olduğu durumlarda, çelişkili sonuçların ortaya çıkma olasılığı ortaya çıkabilir (örneğin, farklı lipid içerikleri, biyokütle/su hacmi oranı, madde biyokütlesi/konsantrasyonu oranı, numune alma zamanı, test balıklarının beslenmesi vb. nedeniyle). Genel olarak, tercihen uygun belgelendirme ile en yüksek kaliteli testlerden elde edilen BCF verileri kullanılmalı ve en yüksek geçerli değer (lipidin birikimin ana ortam olmadığı durumlar hariç, lipid normalizasyonunu takiben) değerlendirme temeli olarak kullanılmalıdır. Aynı tür ve yaşam aşaması vb. için daha güvenilir BCF değerleri mevcut olduğunda, geometrik ortalama (uygun olduğunda lipid normalize değerlerin) biyobirikim ve risk değerlendirmesi için o türe ait temsili BCF değeri olarak kullanılabilir. GHS kriterleri rehberinde, bu tür dört veya daha fazla veri mevcut olduğunda bunun kronik sucul zararlılık sınıflandırması ile ilgili olarak uygulanabilir olduğu belirtilmektedir (OECD, 2001).

Ölçülen BCF değerleri mevcut değilse, BCF birçok organik madde için QSAR ilişkileri kullanılarak tahmin edilebilir. Ancak, girdi parametrelerindeki belirsizliklere dikkat edilmelidir. Örneğin, log K_{ow} değeri altıdan fazla olan maddeler için hem K_{ow} hem de BCF değerlerinin belirlenmesindeki deneysel zorluklar nedeniyle, bu tür maddeler için QSAR tahminleri daha az hidrofobik maddelere göre daha yüksek derecede belirsizliğe sahip olacaktır. Türetilen BCF değerindeki herhangi bir belirsizlik, bir hassasiyet analizinde dikkate alınabilir.

Yırtıcı organizmalar hakkında ölçülen BMF verilerinin mevcudiyeti şu anda çok sınırlıdır. [Tablo R.7.10-3](#) 'te verilen varsayılan değerler, ikincil zehirlenme değerlendirmesini etkileyen değişkenler hakkında daha detaylı bilgi edinmenin gerekli olabileceği maddeleri tanımlamak için tasarlanmış bir tarama yaklaşımı olarak kullanılmalıdır.

Bunlar, saha BMF, BCF ve log K_{ow} değerinin büyüklüğü arasında bir ilişki olduğu varsayımıyla, Rasmussen ve ark. (1990), Clark ve Mackay (1991), Evans ve ark. (1991) ve Fisk ve ark. (1998) tarafından yayınlanan verilere dayanmaktadır. Mevcut verilerin yalnızca gösterge niteliğinde olduğu ve bir maddenin diğer daha karmaşık iç özelliklerinin, söz konusu türler (örn. alım, metabolizma vb. ile ilgili biyolojisi) kadar önemli olabileceği kabul edilmektedir. İkincil zehirlenme değerlendirmesi amacıyla, kullanılacak BMF değerinin saha koşullarında biyomagnifikasyonu temsil eden bir değer olması gerektiği kabul edilmektedir. Doğrudan bir beslenme balık biyobirikim testinden (OECD Test Rehberi 305) elde edilen bir BMF, ikincil zehirlenme değerlendirmesi için bir BMF olarak değiştirilmeden kullanılamaz.

İkincil zehirlenme değerlendirmesi için BMF değeri, deneysel veya saha verilerine dayanarak türetilmediğinde, BMF, [Tablo R.7.10—3](#)'te açıklandığı gibi log K_{ow} verileri kullanılarak tahmin edilebilir. Bu tablonun ikinci sütunu BCF değerlerini (aralıklarını) gösterir. Bu değerler, deneysel BCF verileri mevcutsa varsayılan BMF değerlerinin seçilmesine yardımcı olmayı amaçlamaktadır. EPISuite 4.11'deki BCFBAF programı, pelajik ortamdaki hidrofobik maddeler için BMF/TMF değerlerini tahmin etmek için de kullanılabilir. Bu, BAF değerinin lipid normalizasyonundan sonra farklı trofik seviyelerde hesaplanan BAF değerleri karşılaştırılarak yapılabilir (modelde lipid içerikleri üst, orta ve alt trofik seviyeler için sırasıyla %10.7, %6.85 ve %5.98'dir).

Tablo R.7.10—3 Organik maddelerin ikincil zehirlenme değerlendirmesi için varsayılan BMF değerleri (PBT/vPvB değerlendirmesi için geçerli değildir)

maddenin log K _{ow} değeri	Ölçülen BCF (balık)	BMF
<4.5	< 2,000	1
4.5 - <5	2,000-5,000	2
5 - 8	> 5,000	10
>8 - 9	2,000-5,000	3
>9	< 2,000	1

Önerilen BCF tetikleyicileri, biyotadaki (yani balık) metabolizma potansiyelini daha gerçekçi bir şekilde hesaba kattıklarından, log K_{ow} tetikleyicilerinden daha az koruyucudur. Bu artan ilgi düzeyi nedeniyle, ölçülen BCF değerlerinin tetikleyici olarak kullanılması, log K_{ow} değerine dayalı bir tetikleyiciden öncelikli olacaktır.

BCF veya log K_{ow} verisi mevcut değilse, su ortamındaki biyokonsantrasyon potansiyeli uzman değerlendirmesi ile değerlendirilebilir (örneğin molekül yapısının biyokonsantrasyon verilerinin mevcut olduğu diğer maddelerin yapısı ile karşılaştırılmasına dayalı olarak).

R.7.10.5 Sucul biyobirikim için sonuçlar

Bir maddenin değerlendirilmesinde bu sonlanma noktasının önemi göz önüne alındığında, ihtiyatlı bir yaklaşıma ihtiyaç vardır. Bir sonuca varmak için önceki bölümlerde açıklanan tüm ilgili veri türleri, kanıt ağırlığı yaklaşımında birlikte ele alınmalıdır.

Farklı kanıt hatları tutarlı bir şekilde aynı yönü gösteriyorsa veya farklı veri türleri arasındaki tutarsızlıkları makul bir şekilde açıklamak mümkünse, PBT/vPvB değerlendirmesi için biyobirikim potansiyeli hakkında bir sonuca varmak ve/veya yeni bilgi üretmeden ikincil zehirlenme değerlendirmesi için BCF ve BMF türetmek mümkün olabilir.

Maddenin kendisiyle ilgili güvenilir ölçülmüş balık BCF verileri, eğer bu tür veriler mevcutsa, normalde biyobirikim potansiyeli hakkında en temsili bilgi olarak kabul edilir. Balık BCF değeri, çok çeşitli solungaçla soluyan sucul türlerde (örn. kabuklular) biyobirikim potansiyeli için bir vekil ölçü olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Aşağıda belirtilenler dikkate alınmalıdır:

- Yüksek düzeyde lipofilik/hidrofobik maddelerle ilgili deneysel BCF verileri (örneğin, $\log K_{ow}$ üzerinde $\log K_{ow}$ ile), daha az lipofilik/hidrofobik maddeler için belirlenen BCF değerlerinden çok daha yüksek bir belirsizlik düzeyine sahip olacaktır. Diğer alım yollarına ilişkin verilerin yokluğunda, sudan doğrudan alımın, ~ 4.5 'in altında bir $\log K_{ow}$ değerine sahip maddeler için tüm alım miktarına karşılık geldiği varsayılmaktadır (EC, 2003). $\log K_{ow} \geq 4.5$ olan maddeler için, kontamine gıda veya çökelti alımı gibi diğer alım yolları giderek daha önemli hale gelebilir.
- BCF, birikimin yalnızca kısmi bir resmini verir (özellikle çok hidrofobik maddeler için) ve alım ve temizlenme kinetiği, metabolizma, organa özel birikim ve bağlı kalıntıların seviyesi hakkında ek veriler de yararlıdır. Bu tür veriler çoğu madde için mevcut olmayacaktır (OECD, 2001).

Ayrıca, OECD Test Rehberi 305 III: Beslenme Yoluyla Maruz Kalma Biyobirikim Balık Testi, biyobirikim değerlendirmesi için dikkate alınabilecek bir dizi değerli deneysel bilgi sağlar. Test rehberinin 167. Paragrafı, BMF değerleri, madde asimilasyon verimliliği ve genel temizlenme hızı sabiti dahil olmak üzere biyobirikim değerlendirmesi için rapor edilmesi ve dikkate alınması gereken çalışmadan elde edilen tüm ilgili ölçülen ve hesaplanan verileri listeler. OECD Test Rehberi 305 üzerinde daha fazla rehberlik mevcuttur (OECD, 2017). Sucul omurgasızlardan elde edilen güvenilir ölçülmüş BCF/BAF verileri, varsa, kanıt ağırlığı değerlendirmesinin bir parçası olarak kullanılabilir. Bölüm [R.7.10.3/R.7.10.4](#) ve bölüm [R.7.10.6](#)'da açıklandığı gibi, saha çalışmaları, *in vitro* balık metabolizması çalışmaları ve toksikokinetik ile ilgili bilgiler hakkındaki mevcut bilgiler de, kanıtın ağırlığı yaklaşımının bir parçası olarak düşünülmelidir. *In vitro* balık metabolizması çalışmaları, metabolizma potansiyeli hakkında yararlı kanıtlar sağlayabilir. Bir maddenin metabolizmasının yüksek olduğu gösteriliyorsa, bu biyobirikim potansiyelinin Log Kow tarafından tahmin edilenden daha düşük olduğunu gösterebilir.

Başka bir kanıt hattı, doğrulanmış QSAR modellerinden tahmin edilen BCF/BAF/BMF değerleri ile ilgilidir. Ölçülen verileri girdi terimleri olarak kullanan modeller, hesaplanmış teorik tanımlayıcılar gerektiren modellere tercih edilebilir. Analog maddelerden elde edilen veriler de ilgili yerlerde düşünülebilir.

Diğer bir kanıt hattı, fiziko-kimyasal özelliklere dayanan gösterge ve kurallarla ilgilidir. Log K_{ow} , birçok madde için yararlı bir tarama aracıdır ve genellikle log K_{ow} değeri 3'ün (4, GHS) altında olan iyonlaşmamış organik maddelerin önemli ölçüde biyobirikim yapmadığı varsayılır.

Bu kanıtlar, tamamen geçerli bir balık testinin mevcut olmadığı durumlarda ek testlere ihtiyaç olup olmadığına karar vermek için genel *Kanıt Ağırlığının* bir parçası olarak birlikte değerlendirilebilir. Prensipte olarak, bir maddenin biyobirikimi ile ilgili yasal amaca uygun bir sonuca ulaşmak için, test ve test dışı yaklaşımlardan elde edilen mevcut bilgiler, fiziko-kimyasal özellikler gibi diğer göstergelerle birlikte bütünleştirilmelidir. Aşağıdaki düzenleme, 100 ton/yıl veya üzerinde imal veya ithal edilen maddeler için dikkate alınması gereken düşünce süreçlerini sunmaktadır.

Biyobirikim potansiyeli ile ilgili sonuçlara PBT/vPvB değerlendirmesi için varılmıyorsa (ilgili olduğunda) ve/veya mevcut verilere dayanılarak ikincil zehirlenme değerlendirmesi amacıyla bir BCF ve BMF türetilmiyorsa, daha fazla veri oluşturulması gereklidir. Oluşturulacak ek verilerin türü, mevcut veri setine bağlıdır ve hayvan verileri son çare olarak oluşturulmalıdır. (Yeni) hayvan verilerine ihtiyaç duyulursa, OECD Test Rehberi 305'e göre sürekli akışlı biyobirikim testi tercih edilen seçenektir.

Sucul balık biyobirikim çalışmasının sürekli akış koşulları altında gerçekleştirilmesinin teknik olarak mümkün olmadığı durumlarda, bir sonraki tercih, bir balık beslenme çalışmasıyla yeni veriler oluşturmaktır. Ayrıca, mevcut numune bankası örneklerinin ölçümleri, sahadaki biyobirikimi ölçmek için kullanılabilir. Bununla birlikte, deneysel *in vivo* testlere bu alternatif, saha verileriyle ilgili birçok belirsizlik nedeniyle yalnızca belirli, iyi gerekçelendirilmiş durumlarda veri oluşturmaya yarayabilir. Hayvan kullanımından kaçınılamazsa, yeni numunelerle yeni yüksek kaliteli saha verileri oluşturma olasılığı hariç tutulmaz. Bununla birlikte, bu tür yeni hayvan çalışmaları yalnızca, diğer deneysel çalışmaların biyobirikim hakkında ek bilgi sağlamasının beklenmediği belirli durumlarda dikkate alınmalıdır.

Log $K_{ow} > 2$ ve log $K_{oa} > 4.5$ kombinasyonuna sahip maddelerin sucul organizmalardan daha ziyade tercihen hava soluyan organizmalar içinde birikme potansiyeline sahip olduğu da belirtilmelidir. Bu nedenle, hava soluyan organizmalara bu birikim yolunun değerlendirme için uygun olmaması halinde bir gerekçe sağlanmalıdır veya uygunsa, hava soluyan organizmalardaki risklerin duruma göre değerlendirilmesi yapılmalıdır (bkz. Bölüm [R.7.10.8](#) ila [R.7.10.15](#)).

Şu anda sistematik bir kanıt ağırlığı yaklaşımına ilişkin genel bir rehberlik sağlanamadığına, ancak *hayvan dışı testlerin REACH kaydı için bilgi gerekliliklerini yerine getirmek için hayvan testlerine alternatiflerin nasıl kullanılacağına dair Uygulamalı Rehberde* referans amaçlı temel ilkelerin mevcut olduğuna dikkat edilmelidir.

Adım 1 - Maddenin karakterizasyonu

Yapının doğrulanması:

Bu bilgiler, test dışı tekniklerin (örn. (Q)SAR modelleri) potansiyel kullanımı için gereklidir. Çok bileşenli kimyasal maddeler söz konusu olduğunda tek bir temsili yapının yeterli görülmediği durumlarda iki veya daha fazla yapının dikkate alınması gerekebilir (bkz. [Ek R.7.10-3](#)).

Maddenin fiziko-kimyasal özellikleri:

Biyobirikim değerlendirilmesi için ilgili fiziko-kimyasal özellikler, yani buhar basıncı, suda çözünürlük ve log K_{ow} (ve varsa, oktanol çözünürlüğü, molekül ağırlığı (uygunsa boyut ve maksimum çap dahil) Henry kanunu sabiti, yüzeye tutunma (K_{oc}/K_p) ve pKa) hakkında bilgi toplanır (bkz. Bölüm [R.7.10.3](#)).

Maddenin bozunmasına ilişkin bilgiler:

Ortamda oluşan bozunma (varsa kimyasal reaktivite dahil) ve bozunma ürünleri hakkında bilgi toplanır (bkz. Bölüm [R.7.10.3](#)). Bu, organizmalardaki metabolizmaya bağlı olarak oluşan olası metabolitleri içerebilir (örneğin, mevcutsa balık veya memeli türlerindeki mevcut toksikokinetik verilere dayalı olarak). Bu bilgilere dayanılarak, bozunma ürünlerinin/metabolitlerinin ana maddenin değerlendirmesine dahil edilip edilmeyeceğine karar verilir.

Biyobirikim potansiyelinin ön analizi:

Yukarıdaki hususlara dayanarak, maddenin biyobirikim potansiyelinin (ve uygunsa bozunma ürünlerinin/metabolitlerinin) bir ön analizi yapılır:

- log K_{ow} hakkındaki bilgiler incelenir. Bu, çevreyle ilgili pH değerinde (yani $K_{ow} > 3$) biyobirikim potansiyeli gösteriyor mu? Öyleyse, o zaman:
 - Log $K_{ow} < 6$ ise, doğrusal bir modele göre bir ön BCF tahmin edilir (örn. Veith ve ark. (1979) ve Meylan ve ark. (1999)).
 - Log $K_{ow} > 6$ ise, BCF ve K_{ow} arasındaki nicel ilişkiler belirsizdir. Daha iyi bilginin yokluğunda bir ön BCF 25,000 değerinde (log K_{ow} 6 değerine karşılık gelir) varsayılmalıdır (aşağıya bakınız).
 - İyonlaşabilen maddelere ilişkin rehberlik [Ek R.7.10-3](#)'te verilmektedir.
 - PBT değerlendirmesine ilişkin azalmış alım için gösterge olarak bir dizi moleküler ve fiziko-kimyasal özellik kullanılabilir (daha fazla bilgi için bkz. Bölüm R11). B kriterinin karşılanmayacağı sonucuna varılırsa, bir ön BCF 2,000 değeri en kötü durum olarak kabul edilebilir (örneğin Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi için).
 - Madde karakterizasyonu, maddenin "zor" olduğunu vurgulayabilir (örneğin, yüksek yüzeye tutunma kapasitesine sahip olabilir (örn. log $K_p > 3$) veya K_{ow} değerini ölçmek veya tahmin etmek mümkün olmayabilir); bazı yaygın sorunlara ilişkin daha fazla bilgi [Ek R.7.10-3](#)'te verilmektedir.
 - İlgili maruz kalma yolları tanımlanır: yalnızca su yoluyla veya su ve oral maruz kalma yoluyla (örneğin, log $K_{ow} > 4.5$ olan maddeler için).

Adım 2 – Olası analogların tanımlanması

İlgili ise bir grup yaklaşımının bir parçası olarak kimyasal analoglara ilişkin deneysel biyobirikim verileri araştırılır (bkz. Bölüm [R.7.10.3.2](#)). Seçilen analogların neden benzer olarak kabul edildiği gerekçelendirilir (biyokonsantrasyon potansiyeli açısından). Bu aşamada sorulacak tamamlayıcı sorular şunları içerir:

- Madde, canlı organizmalarda birikme potansiyeline sahip olduğu bilinen bir grup maddeye mi (örn. organokalay bileşikleri, yüksek oranda klorlu organik maddeler, vb.) aittir?
- Log K_{ow} , biyobirikim için ilgili (yani, lipid içerisinde beklenen birikime dayalı) bir öngörücü müdür? Lipidlere (örneğin metaller, perflorlu bileşikler) dağılım dışındaki soğurma mekanizmalarının deneysel kanıtları veya diğer göstergeleri kapsamlı bir şekilde değerlendirilmelidir. Maddenin biyobirikim oluşturabileceğine, ancak yağ içerisinde oluşturmadığına inanmak için nedenler varsa, bu bileşikler için nicel olarak biyobirikim potansiyelini tahmin etmek üzere şu anda test dışı yöntemler bulunmadığından bir BCF çalışması yapılmalıdır.

Adım 3a - Mevcut *in vivo* verilerin değerlendirilmesi

In vivo veriler arasında omurgasızlar (algler dahil) BCF değerleri, balık BCF değerleri, beslenme çalışmalarından balıklar için BMF değerleri (BCF değerine dönüştürülebilir), omurgasızlar için BSAF değerleri, saha çalışmalarından yırtıcı hayvanlar için BMF değerleri ve memelilerden (ve varsa kuşlar) toksikokinetik veriler bulunabilir. Mevcut tüm sonuçlar (rehber ve rehber dışı testler dahil), Bölüm [R.7.10.4.1](#)'de sağlanan kriterlere göre güvenilirlikleri açısından değerlendirilir. Bir veya birkaç standart testten elde edilen veriler mevcutsa, 4b adımında (aşağıda) bu verilerin değerlendirilmesine devam edilir.

Maddenin sahadaki biyomagnifikasyon potansiyelinin diğer göstergeleri de dikkate alınmalıdır. Örneğin, saha çalışmalarından elde edilen sonuçlar (izleme verileri dahil) ikincil zehirlenme ve PBT değerlendirmesinden kaynaklanan risklerin değerlendirilmesini desteklemek için kullanılabilir. Biyomagnifikasyonu gösteren güvenilir saha verileri, maddenin BCF değerinin, K_{ow} değerinden tahmin edilen BCF değerine yaklaşık olarak eşit veya bundan daha büyük olduğunu gösterebilir.

Adım 3b - Test dışı verilerin değerlendirilmesi

K_{ow} değeri, biyokonsantrasyonun iyi bir öngörücüsü ise, K_{ow} değerine dayalı nicel yapı aktivite ilişkileri genellikle önerilir. Suda çözünürlük veya moleküler tanımlayıcılara dayalı nicel yapı aktivite ilişkilerinin kullanımı da düşünülebilir, ancak bunlar daha yüksek belirsizlikle ilişkilendirilebilir. Belirli bir QSAR seçimi her zaman gerekçelendirilmelidir. Genel olarak güvenilir birkaç QSAR tahmini mevcutsa, farkın nedeni dikkate alınmalıdır. Bölüm R.6.1'de ana hatları verilen yaklaşımı takip ederek uzman görüşü kullanılmalıdır. Genel olarak, en alakalı ve güvenilir QSAR modellerinin tahmin edilen BCF değerlerinin üst aralığı kullanılarak ihtiyatlı bir sonuç çıkarılmalıdır.

Deneysel BCF verileri olan analoglar mevcutsa, analoglar için tahmin edilen ve deneysel sonuçların karşılaştırılmasıyla madde için seçilen nicel yapı aktivite ilişkilerinin tahmin edilebilirliğinin bir göstergesi elde edilebilir. Analoglar için iyi ilişki olması, madde için BCF tahminine olan güveni artırır (ilişki iyi olmadığında tersi doğrudur). Çapraz okuma yapıldığında, analogun neden değerlendirilen maddeyle ilgili olduğunun varsayıldığını açıklamak ve gerekçelendirmek her zaman gereklidir (analogun biyobirikim sonlanma noktasıyla ne kadar yakından ilişkili olduğu dahil).

Daha fazla bilgi için Bölüm [R.7.10.4](#) ve maddelerin gruplanması bölümü (Bölüm R.6.2) incelenmelidir.

Adım 3c - *In vitro* verilerin değerlendirilmesi

Güvenilir *in vitro* metabolizma verileri mevcutsa, tahmini bir BCF veya metabolizma nedeniyle azalmış bir BCF için nitel bir gösterge üretmek üzere destekleyici bilgi olarak kullanılabilirler. Daha fazla bilgi Bölüm [R.7.10.3.1](#)'de mevcuttur.

Adım 4a – Kanıt Ağırlığı Değerlendirmesi

“REACH kaydı için bilgi gerekliliklerini yerine getirmek için hayvan testlerine alternatiflerin nasıl kullanılacağına dair” ECHA Uygulamalı Rehberinin (ECHA (2016)) 4.1. Bölümü, bir Kanıt Ağırlığı yaklaşımı oluşturmak için genel bir düzen sunmaktadır. Kanıt Ağırlığı yaklaşımının daha da geliştirilmesinin devam ettiği ve bununla ilgili daha fazla ECHA metodolojisinin yakın gelecekte kullanılabilir hale gelebileceği unutulmamalıdır. Bu nedenle, bu aşamada kanıt ağırlığı yaklaşımları hakkında herhangi bir özel tavsiyede bulunmak mümkün değildir.

Yakın zamanda balık biyobirikim değerlendirme için kademeli bir değerlendirme stratejisi önerilmiştir, ancak bu strateji henüz düzenleyici bir bağlamda test edilmemiştir (Lillicrap, Springer ve Tyler, 2016). PBT değerlendirmesinde kanıt ağırlığı yaklaşımının nasıl kullanılacağına dair daha fazla tartışma, [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.11 içerisinde mevcuttur.

Adım 4b - Çoklu deneysel BCF verileri için Kanıt Ağırlığı

Bölüm [R.7.10.4.1](#)'deki değerlendirme kriterlerine uymayan çalışmaların daha düşük güvenilirliğe sahip olduğu düşünülmesi ve normalde daha düşük ağırlık atanmalıdır.

Birkaç güvenilir balık verisi mevcutsa, herhangi bir farklılığın nedenleri araştırılmalıdır (örn. farklı türler, boyutlar, vb. - bkz. Bölüm [R.7.10.4.1](#)). Veriler, yöntemler arası değişkenliği azaltmak amacıyla mümkünse (ve uygunsa) lipide normalize edilmeli ve büyüme seyrelmesi için düzeltilmelidir. Testlerin sonuçları B veya vB eşik değerlerine yakınsa özel inceleme yapılmalıdır. Hala farklılıklar varsa (örneğin, farklı balık türleri için yüksek kaliteli BCF değerleri mevcutsa), normalde en yüksek güvenilirlikteki lipid normalize BCF değeri seçilmelidir. Alternatif olarak, SEA Kriterleri Uygulama Rehberinin 4.1.3.2.4.3 Bölümünde belirtilen yaklaşım düşünülebilir. Bu, dört veya daha fazla eşdeğer ekotoksikite testinin mevcut olduğu yerlerde geometrik bir ortalama kullanılmasını önerir.

Genel olarak, kullanılan yaklaşım gerekçelendirilmeli ve mevcut kanıt ağırlığı ile desteklenmelidir.

Yeterli farmakokinetik bilgi mevcutsa, organa özel BCF verileri durum bazında kullanılabilir (bkz. Bölüm [R.7.10.4.1](#)).

Genel olarak amaç, bir balık BCF değerinin nicel bir tahminini elde etmek için deneysel çalışmalardan ve diğer göstergelerden elde edilen verileri kullanmaktır. Bununla birlikte, yumuşakçalar hakkında güvenilir BCF verileri de doğrudan kullanılabilir. Omurgasız BCF değerlerinin balık BCF değerlerine eşdeğer olmadığı unutulmamalıdır, çünkü omurgasızlarda biyokonsantrasyonu yöneten fizyolojik süreçler balıklardakilerden önemli ölçüde farklıdır. Özellikle vücut bölümlendirmesi farklıdır ve biyodönüşüm sistemleri daha az gelişmiştir. Bununla birlikte, yüksek kaliteli bir yumuşakça BCF değeri, başka verilerin yokluğunda balık BCF değeri için en kötü durum tahmini olarak kullanılabilir. Diğer omurgasızlar (örn. algler) için belirlenen BCF değerleri, yüksek belirsizliğe yatkın olduklarından kullanılmamalıdır (bkz. Bölüm [R.7.10.4.1](#)).

Bölüm [R.7.10.6](#)'da sunulan BTS, bu ilkeler üzerinde oluşturulmuştur.

R.7.10.5.1 Sınıflandırma ve Etiketleme uygunluğuna ilişkin sonuç

Tüm maddeler çevresel zararlılık sınıflandırması için değerlendirilmelidir. Biyobirikim potansiyeli, uzun süreli etkilerle ilişkili olarak dikkate alınması gereken bir husustur. İyonlaşmayan organik maddelerin çoğunluğu için, sınıflandırma, güvenilir ölçülmüş balık BCF değeri mevcut değilse, başlangıçta vekil olarak log K_{ow} değerine (gerekirse tahmin edilir) dayandırılabilir. Bir sucul organizmada, tercih edilen bilgi türü olan ölçülen BCF mevcut olmadığında, uzun süreli sucul zararlılık kriterleri log K_{ow} ile ilgili bir eşik değer içerdiğinden, öngörülen BCF değerleri sınıflandırma amaçlarıyla ilgili değildir. K_{ow} değerinin iyi bir birikim potansiyeli göstergesi olmadığı durumlarda (bkz. [Ek R.7.10-3](#)), sınırlı biyobirikime ilişkin bir durum diğer kanıtlara (örneğin metabolizma, vb.) dayalı olarak sunulamazsa, genellikle bir *in vivo* teste ihtiyaç duyulur. Balık dışı türler (örn. mavi midye, istiridye ve/veya tarak) için belirlenen yüksek kaliteli BCF değerleri, balık BCF değeri mevcut değilse, doğrudan sınıflandırma amacıyla kullanılabilir.

R.7.10.5.2 PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin sonuç

PBT/vPvB değerlendirmesi için uygunluğa ilişkin rehberlik, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.11'de sağlanmaktadır.

R.7.10.5.3 Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım uygunluğuna ilişkin sonuç

Balık BCF ve BMF değerleri, vahşi yaşam için ikincil zehirlenme değerlendirmesinin bir parçası olarak ve ayrıca insan beslenmesinde maruz kalma için balıklardaki konsantrasyonları hesaplamak üzere kullanılır. Kuşlar ve memeliler için BMF değeri, deniz yaşamı senaryoları için de geçerli olabilir (gerçek verilerin yokluğunda, bir beslenme testinde ölçülen balık BMF değeri, varsayılandan daha yüksek olması koşuluyla vekil olarak kullanılabilir). Omurgasız BCF değeri, çökelti solucanlarının veya kabuklu deniz hayvanlarının tüketimine dayalı bir besin zincirini modellemek için de kullanılabilir. Her madde için ikincil zehirlenme veya çevre yoluyla insan maruz kalmasının değerlendirilmesi her zaman gerekli olmayacaktır; tetikleyici koşullar Bölüm R.16'da verilmiştir.

İlk durumda, birinci kademe risk değerlendirmesi için tahmin edilen bir BCF kullanılabilir. En kötü durum BCF veya varsayılan BMF değerlerine dayalı PEC/PNEC oranı, herhangi bir trofik seviyede potansiyel riskleri gösteriyorsa, daha fazla balık testi yapmadan önce PEC değerinin diğer verilerle (özel risk yönetim önlemlerinin kullanılmasını da içerebilir) iyileştirilip iyileştirilemeyeceği düşünülmelidir. Bu tür veriler aşağıda belirtilenleri içerebilir:

- salım bilgileri,
- Daha güvenilir log K_{ow} değerinin veya bozunma yarı ömrünün belirlenmesi gibi davranışla ilgili parametreler (türetilen değerlerdeki herhangi bir belirsizlik, bir hassasiyet analizinde ele alınmalıdır).

Bazı durumlarda, *in vitro* veya memeli testlerinden elde edilen kanıtlar, balıklarda metabolizmanın yüksek bir olasılıkla önemli olacağı şeklindeki bir *Kanıt Ağırlığı* savunmasının bir parçası olarak kullanılabilir. Bu, özellikle en kötü durum PEC/PNEC oranı birin çok az üzerindeyse, duruma göre endişeyi ortadan kaldırabilir. Bu tür değerlendirmeler, uzman değerlendirmesi gerektirecektir.

İkincil zehirlenme değerlendirmesinin iyileştirilmesinde dikkate alınması ve kullanılması gereken başka konular olabilir.

Veri açısından zengin bazı maddelerin risk değerlendirmesiyle ilgili deneyimler, bu tür hususların, yırtıcılar tarafından tüketilen avdaki maddenin biyoyararlanımı, av türünün seçimi (örneğin balık, çift kabuklular vb.) ile ilgili olarak yırtıcı hayvanın beslenme tercihi, yırtıcı hayvanların beslenme aralığı vb. ile ilgili olabileceğini belirtir. Mümkünse, bilimsel olarak gerekçelendirilirse daha karmaşık besin ağı modelleri ve özel değerlendirme türleri kullanılabilir. Bu tür hususların dahil edilmesi, ikincil zehirlenme değerlendirmesi yapmak için daha kapsamlı bir temel sağlayabilir.

PEC/PNEC oranının büyüklüğüne ve PNEC_{oral} değerindeki belirsizliğe bağlı olarak, özel durumlarda, yeni bir balık BCF testi düşünmeden önce laboratuvar memelileri veya kuşları ile yapılan uzun süreli bir besleme çalışmasından daha gerçekçi bir NOEC_{oral} değeri elde etmek uygun olabilir. Daha fazla memeli veya kuş toksisite testi yapılırsa, bu tür çalışmaların, maruz kalma sırasında hayvanlardaki maddenin konsantrasyonunun belirlenmesi için (yani, besin zincirinin zirvesindeki yırtıcılar için BMF değerlerini ölçmek için) uydu gruplarını içerecek şekilde genişletilmesi de düşünülebilir.

Balık biyobirikimi hakkında daha fazla verinin gerekli olduğu düşünülüyorsa, özel durumlarda, BCF değerini tahmin etmeden veya belirlemeden önce maddenin asimilasyon katsayısını ve biyolojik yarı ömrünü belirlemek üzere balık beslenme çalışmalarıyla başlamak uygun olabilir.

Saha çalışmaları biyobirikim değerlendirmelerine ilişkin değerli "gerçek dünya" verileri verebilse de, bunlar yoğun kaynak gerektirir, geriye dönüktür ve birçok yorumlama problemi vardır. Bu nedenle, laboratuvar testine alternatif veya tamamlayıcı bir eylem yolu olarak saha izleme, yalnızca istisnai durumlarda gerekli olabilir, (besin zincirinin zirvesindeki) yırtıcılardan aktif numune almaktan genellikle etik gerekçelerle kaçınılmalıdır. Bunun yerine, çalışmaların öldürücü olmayan numune alma yöntemleri gerektirmesi muhtemeldir (örneğin, ölü bulunan hayvanların toplanması, dışkıları, kısır kuşların yumurtaları veya memeli derisi veya balina yağı biyopsileri). Sonuç olarak, dikkatli bir tasarıma ihtiyaç duyacaklardır ve numune alınan ortam değerlendirmeye uygun olmalıdır.

R.7.10.6 Sucul biyobirikim için Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)

R.7.10.6.1 Amaç / Genel ilkeler

Test stratejisinin amacı, hayvan kullanımı ve maliyetlerinin en aza indirilmesi için sucul biyobirikim hakkında en verimli şekilde bilgi sağlamaktır. Genel olarak, mevcut veriler BCF değerinin bir yasal kritere yakın olduğunu gösterdiğinde daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulur (yani, sınıflandırma ve etiketleme, PBT değerlendirmesi ve kimyasal güvenlik değerlendirmesinde bir riskin tanımlanmasına yol açabilecek BCF için).

R.7.10.6.2 Ön hususlar

İlk husus, madde bileşimi olmalıdır, ana sorular şudur: madde iyonlaşmayan bir organik bileşik mi ve iyi tanımlanmış temsili bileşenleri var mı? Bunların yanıtı hayır ise, K_{ow} - veya QSAR- tabanlı tahmin yöntemlerinin kullanımı sınırlı derecede yardımcı olacaktır (bkz. [Ek R.7.10-3](#)). Fiziko-kimyasal özellikler (buhar basıncı, suda çözünürlük ve K_{ow} gibi) hakkında yeterli bilgiye sahip olmak da önemlidir, çünkü bunlar test tasarımında ve sucul organizmaların maruz kalma potansiyeli üzerinde önemli bir etkiye sahip olacaktır (örn. zayıf çözünür gazın daha fazla dikkate alınması gerekmeyebilir).

Bu aşamada, maddenin önemli ölçüde biyobirikim oluşturma olasılığının düşük olup olmadığına karar vermek mümkün olabilir (yani $\log K_{ow} < 3$). Son olarak, su ortamının doğrudan ve dolaylı maruz kalmasının olası olmadığına dair doğrulanmış kanıt varsa, bu, daha fazla araştırmanın gerekli olmadığına nedeni olarak kaydedilmelidir.

R.7.10.6.3 Sucul biyobirikim için test stratejisi

100 ton/yıl miktarında imal veya tedarik edilen maddeler için [Şekil R.7.10—1](#) 'de bir strateji sunulmaktadır. Daha fazla bilgi için ana metne atıfta bulunulur. Biyobirikim verilerinin toplanması, bazı durumlarda bir zararlılık sınıflandırmasını veya PBT özelliklerini açıklığa kavuşturmak için 100 ton/yıl miktarının altında gerekli olabilir. Ayrıca, KGD yürüten bir kayıt ettirenin KKDİK Ek 13 içerisindeki biyobirikim kriterlerinin karşılanıp karşılanmadığına ilişkin (daha fazla ayrıntı için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.11) (i) ("Madde PBT ve vPvB kriterlerini karşılamamaktadır") veya (ii) ("Madde, PBT veya vPvB kriterlerini karşılamaktadır") şeklinde kesin bir sonuca varamaması durumunda ve PBT/vPvB değerlendirmesi bu iki sonuçtan birini elde etmek için biyobirikim hakkında ek bilgilerin gerekli olduğunu gösterdiğinde, PBT/vPvB değerlendirmesi için ek biyobirikim verilerinin toplanması ve/veya oluşturulması gerekir.

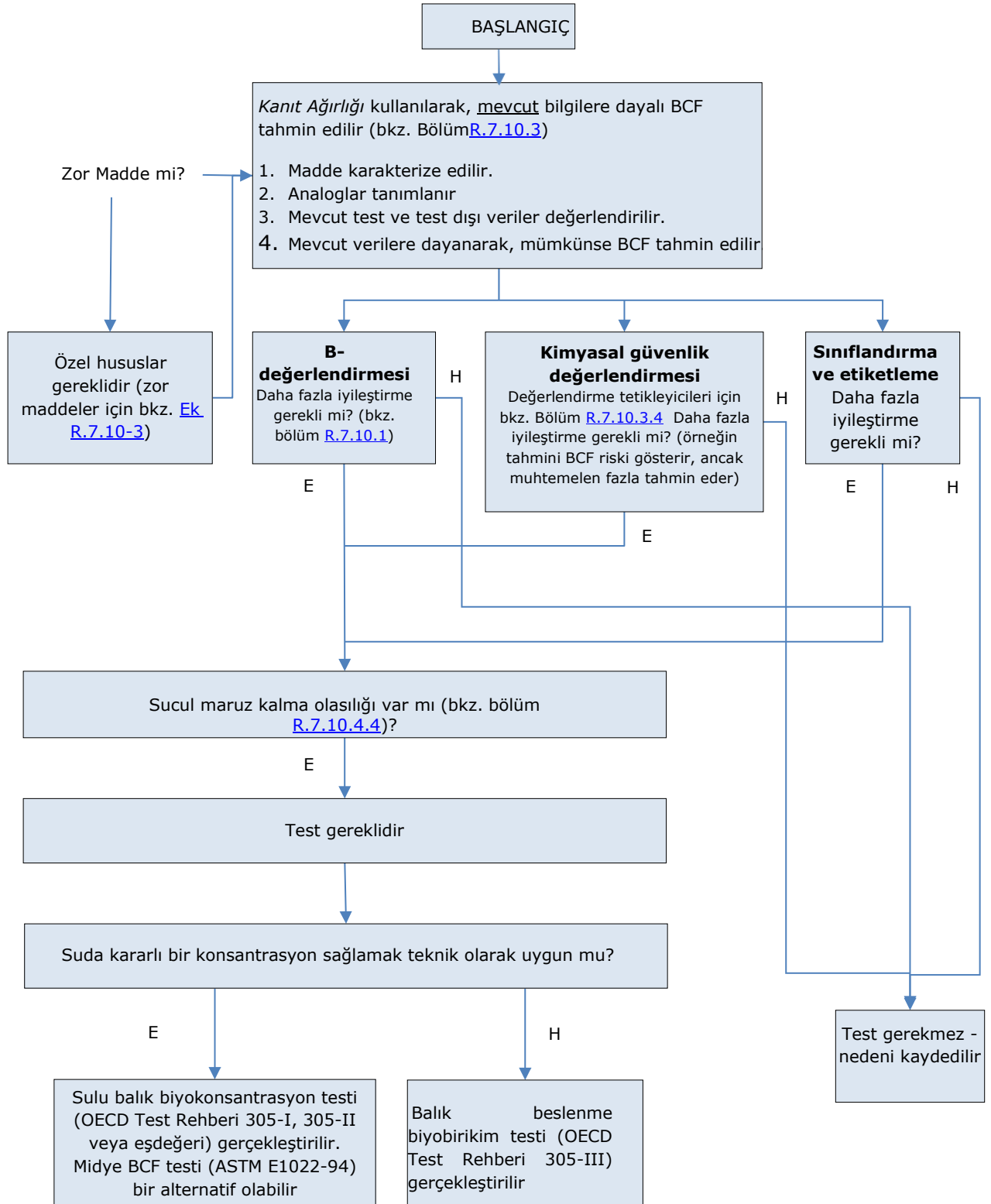
Bazı durumlarda risk yönetimi önlemlerinin, tahmini bir BCF ile yapılan bir ön değerlendirmeyi takiben belirlenen endişeyi ortadan kaldıracak şekilde değiştirilebileceği unutulmamalıdır (maddenin potansiyel olarak PBT/vPvB olması durumunda, daha fazla bilgi için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.11). Alternatif olarak, değerlendirmeyi iyileştirmek için başka veriler toplamak da mümkün olabilir (örneğin salımlar, omurgalı olmayanlara toksisite (bir birikim testi ile birleştirilebilir) veya çevresel davranış hakkında daha fazla bilgi). Bu gibi durumlarda kademeli bir strateji, balıklarla sucul biyobirikimin daha fazla araştırılmasını sonraki bir aşamaya geçirebilir.

Ayrıca, bir omurgasız testinin, en kötü durum balık BCF değerini tahmin etmek için teknik olarak uygulanabilir ve uygun maliyetli bir alternatif yaklaşım olup olmadığı da dikkate alınmalıdır. Böyle bir testin yapılmasının ardından BCF değerinin iyileştirilmesine hala ihtiyaç duyuluyorsa, bir balık çalışması hala gerekli olabilir.

Bütünleşik test stratejisinin *in vitro* veya saha verileri toplama gereklilikleri içermediği unutulmamalıdır. *In vitro* verilerin kullanımı, bu teknikler yasal olarak kabul edilene kadar duruma göre bir karar olmaya devam edecektir. Biyomagnifikasyon faktörü hakkında daha fazla bilgi toplanması gerekiyorsa, saha verileri muhtemelen uygun olabilir.

Bununla ilgili olarak, yüksek $\log K_{ow}$ maddeleri için K_{oa} değerinin dikkate alınmasına ihtiyaç vardır (bkz. Bölüm [R.7.10.3.4](#)).

Şekil R.7.10—1 Sucul biyobirikim için BTS



R.7.10.7 Sucul biyobirikim için referanslar

AMAP [Kuzey Kutbu İzleme ve Değerlendirme Programı] (2001) AMAP Aşama 2 Değerlendirmeleri için Rehber. AMAP Rapor 2001: 1 (erişim adresi: <http://www.amap.no/>).

Ankley GT, Cook PM, Carlson AR, Call DJ, Swenson JA, Corcoran HF ve Hoke RA (1992) Bioaccumulation of PCBs from sediments by oligochaetes and fishes: Comparison of laboratory and field studies (Kara ve tatlı su solucangilleri ve balıklar tarafından çökeltilerden PCB biyobirikimi: Laboratuvar ve saha çalışmalarının karşılaştırması). Can J Fish Aquat Sci 49:2080-5.

Anon. (2004a) Balık, Beslenme Yoluyla Biyobirikim Çalışması - Temel Protokol, PBT hakkında TC-NES WG'ye sunulan belge.

Anon. (2004b) Balık beslenme çalışma protokolünün temel belgesi, PBT hakkında TC-NES WG'ye sunulan belge.

Arnot JA ve Gobas FAPC (2003) A generic QSAR for assessing the bioaccumulation potential of organic chemicals in aquatic food webs (Sucul gıda ağlarında organik kimyasalların biyobirikim potansiyelini değerlendirmek için eşdeğer bir QSAR). QSAR Combin Sci 22:337-45.

Arnot JA ve Gobas FAPC (2004) A food web bioaccumulation model for organic chemicals in aquatic ecosystems (Su ekosistemlerindeki organik kimyasallar için bir gıda ağı biyobirikim modeli). Environ Toxicol Chem 23:2343-55.

Arthur CL ve Pawliszyn J (1990) Solid phase microextraction with thermal desorption using fused silica optical fibers (Kaynaşmış silika optik lifler kullanılarak termal yüzeye tutunma ile katı faz mikro özütleme). Anal Chem 62:2145-8.

ASTM (2000) E1688-00a: Bentik Omurgasızlar Tarafından Çökeltiyle İlişkili Kirleticilerin Biyobirikiminin Belirlenmesi İçin Standart Rehber. ASTM International, West Conshohocken, PA, Amerika Birleşik Devletleri.

ASTM (2003) E1022-94: Balıklar ve Tuzlu Su Çift Kabuklu Yumuşakçaları ile Biyokonsantrasyon Testleri Yapmak İçin Standart Rehber. ASTM International, West Conshohocken, PA, Amerika Birleşik Devletleri.

Banerjee S, Sugatt RH ve O'Grady DP (1984) A simple method for determining bioconcentration parameters of hydrophobic compounds (Hidrofobik bileşiklerin biyokonsantrasyon parametrelerini belirlemek için basit bir yöntem). Environ Sci Technol 18:79-81.

Banerjee S ve Baughman GL (1991) Bioconcentration factors and lipid solubility (Biyokonsantrasyon faktörleri ve lipid çözünürlüğü). Environ Sci Technol 25:536-9.

Barber MC, Suarez LA ve Lassiter RR (1991) Modelling Bioaccumulation of Organic Pollutants in Fish with an Application to PCBs in Lake Ontario Salmonids (Ontario Gölü Salmonidlerinde PCB Maddelere Bir Uygulama ile Balıklarda Organik Kirleticilerin Biyobirikiminin Modellenmesi). Can J Fish Aquat Sci 48:318-37.

Baron MG, Purcell WM, Jackson SK, Owen SF ve Jha AN (2012) Towards a more representative in vitro method for fish ecotoxicology: morphological and biochemical characterisation of three-dimensional spheroidal hepatocytes (Balık ekotoksikolojisi için daha temsili bir in vitro yöntemine doğru: üç boyutlu küresel hepatositlerin morfolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu). Ecotoxicology 21:2419-29.

Barron M (1990) Bioconcentration (Biyokonsantrasyon) Environ Sci Technol 24:1612-18.

Bernhard MJ ve Dyer SD (2005) Fish critical cellular residues for surfactants and surfactant mixtures (Yüzey aktif maddeler ve yüzey aktif madde karışımları için balık için kritik hücresel kalıntılar). *Environ Toxicol Chem* 24:1738-44.

Bintein S, Devillers J ve Karcher W (1993) Nonlinear dependence of fish bioconcentration on n-Octanol/water partition coefficients (n-Oktanöl/su dağılım katsayıları üzerinde balık biyokonsantrasyonunun doğrusal olmayan bağımlılığı). *SAR QSAR Environ Res* 1:29- 39.

Boethling RS ve Mackay D (2000) Handbook of property estimation methods for chemicals: environmental and health sciences (Kimyasallar için özellik tahmin yöntemleri El Kitabı: çevre ve sağlık bilimleri). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, ABD.

Booij K, Sleiderink HM ve Smedes F (1998) Calibrating the uptake kinetics of semipermeable membrane devices using exposure standards (Maruz kalma standartları kullanılarak yarı geçirgen zar cihazlarının alım kinetiğinin kalibre edilmesi). *Environ Toxicol Chem* 17:1236-45.

Borgå K, Fisk AT, Hargrave B, Hoekstra PF, Swackhamer D ve Muir DCG (2005) Bioaccumulation factors for PCBs revisited (PCB maddeler için biyobirikim faktörlerinin yeniden gözden geçirilmesi). *Environ Sci Technol* 39:4523-32.

Brooke D ve Crookes M (2012) Depuration rate constant: growth correction and use as an indicator of bioaccumulation potential (Temizleme hızı sabiti: büyüme düzeltmesi ve biyobirikim potansiyelinin bir göstergesi olarak kullanılması). Çevre Ajansı, Bristol, İngiltere. Ürün kodu LIT 7371. ISBN: 978-1-84911-283-3.

Broman D, Näf C, Rolff C, Zebuhr Y, Fry B ve Hobbie J (1992) Using ratios of stable nitrogen isotopes to estimate bioaccumulation and flux of polychlorinated dibenzo-p- dioxins (PCDDs) and dibenzofurans (PCDFs) in two food chains from the northern Baltic (Kuzey Baltık'tan iki besin zincirinde poliklorlu dibenzo-p-dioksinlerin (PCDD) ve dibenzofuranların (PCDF) biyobirikim ve akısını tahmin etmek için kararlı nitrogen izotoplarının oranlarının kullanılması). *Environ Toxicol Chem* 11:331-45.

Burkhard LP (2003) Factors influencing the design of BAF and BSAF field studies (BAF ve BSAF saha çalışmalarının tasarımını etkileyen faktörler). *Environ Toxicol Chem* 22:351-60.

Burkhard LP, Cook PM ve Mount DR (2003) The relationship of bioaccumulative chemicals in water and sediment to residues in fish: a visualization approach (Sudaki ve çökeltideki biyobirikimli kimyasalların balıktaki kalıntılarla ilişkisi: bir görselleştirme yaklaşımı). *Environ Toxicol Chem* 22:2822-30.

Burkhard LP, Cook PM ve Lukasewycz MT (2005) Comparison of biota-sediment accumulation factors across ecosystems (Ekosistemler arasında biyota-çökelti birikim faktörlerinin karşılaştırılması). *Environ Sci Technol* 39:5716-21.

Campfens J ve Mackay D (1997) Fugacity-Based Model of PCB Bioaccumulation in Complex Food Webs (Karmaşık Besin Ağlarında PCB Biyobirikiminin Termodinamik Basınca Dayalı Modeli). *Environ Sci Technol* 31:577-83.

Chiou CT, Freed VH, Schmedding DW ve Kohnert RL (1977) Partition coefficient and bioaccumulation of selected organic chemicals (Seçilmiş organik kimyasalların dağılım katsayısı ve biyobirikimi). *Environ Sci Technol* 11:475-8.

Clark KE ve Mackay D (1991) Dietary uptake and biomagnification of four chlorinated hydrocarbons by guppies (Lepistesler tarafından dört klorlu hidrokarbonun beslenme yoluyla alınması ve biyomagnifikasyonu). *Environ Toxicol Chem* 10:1205-17.

Claudi R ve Mackie GL (1993) Zebra Mussel Monitoring and Control (Zebra Midye İzleme ve Kontrolü). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, ABD, s. 227.

Connell DW ve Hawker DW (1988) Use of polynomial expressions to describe the bioconcentration of hydrophobic chemicals by fish (Balıklar tarafından hidrofobik kimyasalların biyokonsantrasyonunu açıklamak için polinom ifadelerinin kullanımı). *Ecotoxicol Environ Saf* 16:242-57.

Cornelissen G, Gustafsson O, Bucheli TD, Jonker MT, Koelmans AA ve van Noort PC (2005) Extensive sorption of organic compounds to black carbon, coal, and kerosene in sediments and soils: mechanisms and consequences for distribution, bioaccumulation, and biodegradation (Çökelti ve topraklarda organik bileşiklerin siyah karbon, kömür ve kerosene kapsamlı soğurulması: dağılım, biyobirikim ve biyobozunurluk için mekanizmalar ve sonuçlar). *Environ Sci Technol* 39:6881-95.

Cowan-Ellsberry CE, Dyer SD, Erhardt S, Bernhard MJ, Roe AL, Dowty ME, Weisbrod AV (2008) Approach for extrapolating in vitro metabolism data to refine bioconcentration factor estimates (Biyokonsantrasyon faktörü tahminlerini iyileştirmek için in vitro metabolizma verilerinin ekstrapolasyonuna yönelik yaklaşım). *Chemosphere* 70:1804-17.

Crookes M, Brooke D (2011) Estimation of fish bioconcentration factor (BCF) from depuration data (Temizlenme verilerinden balık biyokonsantrasyon faktörünün (BCF) tahmini). UK Environment Agency, Bristol, UK.

Davies RP ve Dobbs A (1984) The prediction of bioconcentration in fish (Balıklarda biyokonsantrasyon tahmini). *Water Res* 18:1253-62.

Dearden JC (2004) QSAR modelling of bioaccumulation (Biyobirikimin QSAR modellemesi). *Kaynak: Cronin MTD ve Livingstone DJ (Ed.) Predicting Chemical Toxicity and Fate (Kimyasal Toksikite ve Davranışın Öngörülmesi)*. CRC Press, Boca Raton, FL, ABD, s.333-55.

De Maagd PGJ (1996) Biotransformation of Polyaromatic Hydrocarbons in Fathead Minnow (*Pimephales promelas*): The use of a Static Exposure System and the Biotransformation Inhibitor of Piperonyl Butoxide (Yassı Kafalı Golyan Balığında (*Pimephales promelas*) Poliaromatik Hidrokarbonların Biyodönüşümü: Statik Maruz Kalma Sisteminin Kullanımı ve Piperonil Butoksit Biyodönüşüm İnhibitörü), Bölüm 4, Doktora tezi, Utrecht Üniversitesi, Hollanda, s. 69-93.

Devillers J ve Lipnick RL (1990) Practical applications of regressions analysis in environmental QSAR studies (Çevresel QSAR çalışmalarında regresyon analizinin pratik uygulamaları). *Kaynak: Karcher W ve Devillers J (Ed.) Practical Application of Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) in Environmental Chemistry and Toxicology (Çevre Kimyası ve Toksikolojide Nicel Yapı-Aktivite İlişkilerinin (QSAR) Pratik Uygulaması)*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Hollanda, s. 129-43.

De Wolf W, Seinen W ve Hermens JLM (1993) N-acetyltransferase activity in rainbow trout liver and in vitro biotransformation of chlorinated anilines and benzenes in fish (Gökkuşluğu alabalığı karaciğerinde N-asetiltransferaz aktivitesi ve balıklarda klorlu anilin ve benzenlerin in vitro biyodönüşümü). *Xenobiotica* 23:1045-56.

De Wolf W ve Lieder PH (1998) A novel method to determine uptake and elimination kinetics in fish of volatile chemicals (Uçucu kimyasalların balıklarda alım ve eliminasyon kinetiğini belirlemek için yeni bir yöntem). *Chemosphere*: 36:1713-24.

De Wolf W, Comber M, Douben P, Gimeno S, Holt M, Léonard M, Lillicrap A, Sijm D, van Egmond R, Weisbrod A ve Whale G (2007) Animal use replacement, reduction and refinement: development of an integrated testing for bioconcentration of chemicals in fish (Hayvan kullanımı değiştirme, azaltma ve iyileştirme: balıktaki kimyasalların biyokonsantrasyonu için bütünleşik bir testin geliştirilmesi). Integr Environ Assess Manag 3:3-17.

Di L, Trapa P, Obach RS, Atkinson K, Bi Y-A, Wolford AC, Tan B, McDonald TS, Lai Y, Temaine LM (2012) A novel relay method for determining low-clearance values (Düşük klirens değerlerini belirlemek için yeni bir alternatif yöntem). Drug Metab Dispos 40:1860-5.

Dimitrov SD, Mekenyan OG ve Walker JD (2002a) Non-linear modelling of bioconcentration using partition coefficients for narcotic chemicals (Narkotik kimyasallar için dağılım katsayıları kullanarak biyokonsantrasyonun doğrusal olmayan modellenmesi). SAR QSAR Environ Res 13:177-88.

Dimitrov SD, Dimitrova NC, Walker JD, Veith GD ve Mekenyan OG (2002b) Predicting bioconcentration factors of highly hydrophobic chemicals. Effects of molecular size (Yüksek hidrofobik kimyasalların biyokonsantrasyon faktörlerinin tahmini. Moleküler boyutun etkileri). Pure Appl Chem 74:1823-30.

Dimitrov SD, Dimitrova NC, Walker JD, Veith GD ve Mekenyan OG (2003) Bioconcentration potential predictions based on molecular attributes - an early warning approach for chemicals found in humans, birds, fish and wildlife (Moleküler niteliklere dayalı biyokonsantrasyon potansiyeli tahminleri - insanlarda, kuşlarda, balıklarda ve vahşi yaşamda bulunan kimyasallar için erken uyarı yaklaşımı). QSAR Combin Sci 22:58-67.

Dimitrov SD, Dimitrova NC, Parkerton TF, Comber M, Bonnell M ve Mekenyan O (2005a) Base-line model for identifying the bioaccumulation potential of chemicals (Kimyasalların biyobirikim potansiyelini belirlemek için temel model). SAR QSAR Environ Res 16:531-54.

Dimitrov SD, Dimitrova G, Pavlov T, Dimitrova N ve Patlewicz G (2005b) A Stepwise Approach for Defining the Applicability Domain of SAR and QSAR Models (SAR ve QSAR Modellerinin Uygulanabilirlik Alanını Tanımlamak için Aşamalı Bir Yaklaşım). J Chem Inf Model 4:839-49.

Dulfer WJ ve Govers HAJ (1995) Membrane/water partitioning of polychlorinated biphenyls in small unilamellar vesicles of four saturated phosphatidylcholines (Dört doymuş fosfatidilkolinin küçük tek lamelli keseciklerinde poliklorlu bifenillerin zar/su dağılımı). Environ Sci Technol 29:2548-54.

Dyer SD, Bernhard MJ, Cowan-Ellsberry C, Perdu-Durand E, Demmerle S ve Cravedi J-P (2008) In vitro biotransformation of surfactants in fish. Part I: Linear alkylbenzene sulfonate (C12-LAS) and alcohol ethoxylate (C13EO8) (Balıklarda yüzey aktif maddelerin in vitro biyodönüşümü. Bölüm I: Doğrusal alkilbenzen sülfonat (C12-LAS) ve alkol etoksilat (C13EO8)). Chemosphere 72:850-62.

ECETOC (1996) Teknik Rapor No. 67. Çevresel Risk Değerlendirmesinde Biyobirikimin Rolü: Sucul Ortam ve İlgili Besin Ağları. ISSN-0773-8072- 67.

ECETOC (2005) Teknik Rapor No. 97. Çevre güvenliği değerlendirilmesinde alternatif test yaklaşımları. ISSN-0773-8072-97.

ECHA (2016) Uygulamalı rehber: REACH kayıt Versiyon 2.0 - Temmuz 2016 için bilgi gerekliliklerini yerine getirmek amacıyla hayvanlar testine alternatifler nasıl kullanılır.

Ellgenhausen H, Guth JA ve Esser HO (1980) Factors determining the bioaccumulation potential of pesticides in the individual compartments of aquatic food chains (Sucul besin zincirlerinin münferit ortamlarındaki pestisitlerin biyobirikim potansiyelini belirleyen faktörler). *Ecotoxicol Environ Saf* 4:134-57.

Embry MR, Bernhard M, Davis JW, Domoradzki J, Fay KA, Bischof I, Halder M, Han X, Hu J, Johanning K, Laue H, Nabb D, Nichols JW, Schlechtriem C, Segner H, van der Wal L ve Weeks JA (2015). *In vitro* Balık Karaciğer Metabolizması: Aktarılabirliği, Laboratuvar İçi ve Laboratuvarlar Arası Yeniden Üretilebilirliği Değerlendirmek için Zincir Araştırmaya Genel Bakış. Özet TP113, SETAC Kuzey Amerika Yıllık Toplantısı, Salt Lake City, UT. Erişim adresi: https://c.ymcdn.com/sites/www.setac.org/resource/resmgr/Abstract_Books/SETAC-SLC-Abstract-Book.pdf

Escuder-Gilabert L, Martin-Biosca Y, Sagrado S, Villanueva-Camañas RM ve Medina-Hernandez MJ (2001) Biopartitioning micellar chromatography to predict ecotoxicity (Ekotoksisteyi tahmin etmek için misel kromatografi biyodağılımı). *Anal Chim Acta* 448:173-85.

EC [European Commission] (2003) Yeni bildirilen maddeler için Risk Değerlendirmesine ilişkin 93/67/EEC sayılı Komisyon Direktifi, mevcut maddeler için Risk Değerlendirmesine ilişkin 1488/94 sayılı Komisyon Yönetmeliği (EC) ve biyosidal ürünlerin piyasaya arzına ilişkin Avrupa Parlamentosu ve Konseyinin 98/8/EC sayılı Direktifini destekleyen Risk Değerlendirmesine ilişkin Teknik Rehber Doküman.

Evans MS, Noguchi GE ve Rice CP (1991) The biomagnification of polychlorinated biphenyls, toxaphene, and DDT compounds in a Lake Michigan offshore food web (Michigan Gölü açık deniz gıda ağındaki poliklorlu bifenil, toksafen ve DDT bileşiklerinin biyomagnifikasyonu). *Arch Environ Contam Toxicol* 20:87-93.

Fay KA, Mingoia RT, Goeritz I, Nabb DL, Hoffman AD, Ferrell BD, Peterson HM, Nichols JW, Segner H ve Han X (2014a) Intra- and inter-laboratory reliability of a cryopreserved trout hepatocyte assay for the prediction of chemical bioaccumulation potential (Kimyasal biyobirikim potansiyeli tahmini için dondurularak korunan alabalık hepatosit testinin laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası güvenilirliği). *Environ Sci Technol* 48:8170-8.

Fay KA, Fitzsimmons AD, Hoffman AD, Nichols JW (2014b) Optimizing the use of rainbow trout hepatocytes for bioaccumulation assessments with fish (Balıklarda biyobirikim değerlendirmeleri için gökkuşağı alabalığı hepatositlerinin kullanımının optimizasyonu). *Xenobiotica* 44:345-51.

Fay KA, Nabb DL, Mingoia RT, Bischof I, Nichols JW, Segner H, Johanning K ve Han X (2015a) Determination of metabolic stability using cryopreserved hepatocytes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Gökkuşağı alabalığından (*Oncorhynchus mykiss*) dondurularak korunan hepatositler kullanılarak metabolik kararlılığın belirlenmesi). *Curr Protocol Toxicol* 65:4.42.1-4.42.29.

Fay KA, Embry MR, Bernhard M, Bischof I, Davis JW, Domoradzki J, Halder M, Han X, Hu J, Johanning K, Laue H, Nabb D, Nichols JW, Schlechtriem C, Segner H, van der Wal L ve Weeks JA (2015b) *In vitro* to *In vivo* Extrapolation of Hepatic Metabolism in Fish: An Inter-laboratory Comparison of *In vitro* Methods (Balıklarda Hepatik Metabolizmanın *İn vivo*dan *İn vitro* Duruma Ekstrapolasyonu: *İn Vitro* Yöntemlerin Laboratuvarlar Arası Karşılaştırması). Özet 294, SETAC Kuzey Amerika Yıllık Toplantısı, Salt Lake City, UT. Erişim adresi: https://c.ymcdn.com/sites/www.setac.org/resource/resmgr/Abstract_Books/SETAC-SLC-Abstract-Book.pdf

Fisk AT, Norstrom RJ, Cymbalisty CD ve Muir DCG (1998) Dietary accumulation and

deposition of hydrophobic organochlorines: Bioaccumulation parameters and their relationship with the octanol/water partition coefficient (Hidroforobik organoklorinlerin beslenme yoluyla birikimi ve temizlenmesi: Biyobirikim parametreleri ve bunların oktanol/su dağılım katsayısı ile ilişkisi). *Environ Toxicol Chem* 17:951- 61.

Fisk AT, Hobson KA ve Norstrom RJ (2001) Influence of chemical and biological factors on trophic transfer of persistent organic pollutants in the Northwater Polynya marine food web (Northwater Polynya deniz besin ağında kalıcı organik kirleticilerin trofik aktarımında kimyasal ve biyolojik faktörlerin etkisi). *Environ Sci Technol* 35:732-8.

Geyer HJ, Sheehan D, Kotzias D, Freitag D ve Korte F (1982) Prediction of ecotoxicological behaviour of chemicals: relationship between physico-chemical properties and bioaccumulation of organic chemicals in the mussel (Kimyasalların ekotoksikolojik davranışının tahmini: midyedeki organik kimyasalların fiziko-kimyasal özellikleri ve biyobirikimi arasındaki ilişki). *Chemosphere* 11:1121-34.

Geyer HJ, Politzki G ve Freitag D (1984) Prediction of ecotoxicological behaviour of chemicals: relationship between n-octanol/water partition coefficient and bioaccumulation of organic chemicals by algae *Chlorella* (Kimyasalların ekotoksikolojik davranışının tahmini: n-oktanol/su dağılım katsayısı ile organik kimyasalların alg *Chlorella* tarafından biyobirikimi arasındaki ilişki). *Chemosphere* 13:269-84.

Geyer HJ, Scheunert I, Brüggemann R, Steingerg C, Korte F ve Kettrup A (1991) QSAR for organic chemical bioconcentration in *Daphnia*, algae, and mussels (Dafniya, alg ve midyelerde organik kimyasal biyokonsantrasyonu için QSAR). *Sci Total Environ* 109/110:387-94.

Gobas FAPC, Shiu WY and Mackay D (1987) Factors determining partitioning of hydrophobic organic chemicals in aquatic organisms (Sucul organizmalarda hidroforobik organik kimyasalların dağılımını belirleyen faktörler). *Kaynak: Kaiser KLE (Ed.), QSAR in Environmental Toxicology (Çevresel Toksikolojide QSAR) - II. D Reidel Publishing Company, Dordrecht, Hollanda, s.107-23.*

Gobas FAPC, Lahittete JM, Garofalo G, Shiu WY ve Mackay D (1988) A novel method for measuring membrane-water partition coefficients of hydrophobic organic chemicals: Comparison with 1-octanol-water partitioning (Hidroforobik organik kimyasalların membran-su dağılım katsayılarını ölçmek için yeni bir yöntem: 1-oktanol-su dağılımıyla karşılaştırma). *J Pharm Sci* 77:265-72.

Gobas FAPC, Clark KE, Shiu WY and Mackay D (1989) Bioconcentration of polybrominated benzenes and biphenyls and related superhydrophobic chemicals in fish: Role of bioavailability and elimination into feces (Balıklarda polibromlu benzenlerin ve bifenillerin ve ilgili süperhidroforobik kimyasalların biyokonsantrasyonu: Dışkıda biyoyararlanım ve eliminasyonun rolü). *Environ Toxicol Chem* 8:231-45.

Gobas FAPC (1993) A Model for Predicting the Bioaccumulation of Hydrophobic Organic Chemicals in Aquatic Food-Webs: Application to Lake Ontario (Sucul Besin Ağlarında Hidroforobik Organik Kimyasalların Biyobirikimi Öngörmek İçin Bir Model: Ontario Gölü'ne Uygulama). *Ecol Model* 69:1-17.

Gobas FAPC, Kelly BC ve Arnot JA (2003) Quantitative structure activity relationships for predicting the bioaccumulation of POPs in terrestrial food-webs (Karasal besin ağlarında KOK'ların biyobirikimini tahmin etmek için nicel yapı aktivite ilişkileri). *QSAR Combin Sci* 22:329-36.

Gomez CF, Constantine L ve Huggett DB (2010) The influence of gill and liver metabolism on the predicted bioconcentration of three pharmaceuticals in fish (Solungaç ve karaciğer metabolizmasının balıklarda üç farmasötik maddenin öngörülen biyokonsantrasyonu üzerindeki etkisi). Chemosphere 81:1189-95.

Kanada Hükümeti (1999) Kanada Çevre Koruma Yasası, Kanada Gazetesi Bölüm III.

Gramatica P ve Papa E (2003) QSAR modelling of bioconcentration factor by theoretical molecular descriptors (Teorik moleküler tanımlayıcılarla biyokonsantrasyon faktörünün QSAR modellemesi). QSAR Combin Sci 22:374-85.

Gramatica P ve Papa E (2005) An update of the BCF QSAR model based on theoretical molecular descriptors (Teorik moleküler tanımlayıcılara dayalı BCF QSAR modelinin bir güncellemesi). QSAR Combin Sci 24:953-60.

Hallifax D, Foster JA ve Houston JB (2010) Prediction of human metabolic clearance from *in vitro* systems: Retrospective analysis and prospective view (*In vitro* sistemlerden insan metabolik klirensinin tahmini: Geçmişe dönük analiz ve ileriye dönük görünüş). Pharm Res 27:2150- 61.

Han X, Nabb DL, Mingoia RT ve Yang CH (2007) Determination of xenobiotic intrinsic clearance in freshly isolated hepatocytes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and rat and its application in bioaccumulation assessment (Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve sıçandan yeni izole edilmiş hepatositlerde ksenobiyotik iç klirensin belirlenmesi ve biyobirikim değerlendirilmesindeki uygulaması). Environ Sci Technol 41:3269-76.

Han X, Nabb DL, Yang CH, Snajdr SI ve Mingoia RT (2009) Liver microsomes and S9 from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Comparison of basal-level enzyme activities with rat and determination of xenobiotic intrinsic clearance in support of bioaccumulation assessment (Karaciğer mikrozomları ve gökkuşluğu alabalığından (*Oncorhynchus mykiss*) S9: Bazal seviye enzim aktivitelerinin sıçanla karşılaştırılması ve biyobirikim değerlendirilmesini desteklemek için ksenobiyotik iç klirensin belirlenmesi). Environ Toxicol Chem 28:481-8.

Hawker DW ve Connell DW (1986) Bioconcentration of lipophilic compounds by some aquatic organisms (Bazı suda yaşayan organizmalar tarafından lipofilik bileşiklerin biyokonsantrasyonu). Ecotoxicol Environ Saf 11:184-97.

Hendriks AJ ve Pieters H (1993) Monitoring concentrations of microcontaminants in aquatic organisms in the Rhine delta: a comparison with reference values (Ren deltasındaki sucul organizmalardaki mikro kirletici konsantrasyonlarının izlenmesi: referans değerlerle bir karşılaştırma). Chemosphere 26:817-36.

Hendriks JA ve Heikens A (2001) The power of size. 2. Rate constants and equilibrium ratios for accumulation of inorganic substances related to species weight (Boyutun gücü. 2. Tür ağırlığı ile ilgili inorganik maddelerin birikimi için hız sabitleri ve denge oranları). Environ Toxicol Chem 20:1421-37.

Hendriks JA, van der Linde A, Cornelissen G ve Sijm DTHM (2001) The power of size. 1. Rate constants and equilibrium ratios for accumulation of organic substances related to octanol-water partition ratio and species weight. (Boyutun gücü. 1. Oktanol-su dağılım oranı ve tür ağırlığı ile ilgili organik maddelerin birikimi için hız sabitleri ve denge oranları). Environ Toxicol Chem 20:1399-420.

Hidalgo IJ ve Li J (1996) Carrier-mediated transport and efflux mechanisms in Caco-2 cells (Caco-2 hücrelerinde taşıyıcı aracılı taşıma ve dışarı akış mekanizmaları). Adv Drug Deliv Rev 22:53-66.

Houston JB (1994) Utility of *in vitro* drug metabolism data in predicting *in vivo* metabolic clearance (*In vivo* metabolik klirensin tahmin edilmesinde *in vitro* ilaç metabolizması tarihinin faydası). *Biochem Pharmacol* 47:1469-79.

Houston JB ve Carlile DJ (1997) Prediction of hepatic clearance from microsomes, hepatocytes, and liver slices (Mikrozomlardan, hepatositlerden ve karaciğer dilimlerinden hepatik klirensin tahmini). *Drug Metab Rev* 29:891-922.

Howard PH, Sage GW, La Macchia A ve Colb A (1982) The development of an environmental fate database (Çevresel davranış veri tabanının geliştirilmesi). *J Chem Inf Comp Sci* 22:38-44.

Howard PH, Hueber AE, Mulesky BC, Crisman JS, Meylan W, Crosbie E, Gray DA, Sage GW, Howard KP, LaMacchia A, Boethling R ve Troast R (1986) BIOLOG, BIODEG, and FATE/EXPOS: New files on microbial degradation and toxicity as well as environmental fate/exposure of chemicals (BIOLOG, BIODEG ve FATE/EXPOS: Mikrobiyal bozunma ve toksisite ile kimyasalların çevresel davranışı/maruz kalmayla ilgili yeni dosyalar). *Environ Toxicol Chem* 5:977-88.

Hu H, Xu F, Li B, Cao J, Dawson R ve Tao S (2005) Prediction of the Bioconcentration Factor of PCBs in Fish Using the Molecular Connectivity Index and Fragment Constant Models (Moleküler Bağlantı İndeksi ve Oran Sabit Modellerini Kullanarak Balıklarda PCB Maddelerin Biyokonsantrasyon Faktörünün Tahmini). *Water Environ Res* 77:87-97.

Huckins JN, Tubergen MW ve Manuweera GK (1990) Semipermeable membrane devices containing model lipids: a new approach to monitoring the bioavailability of lipophilic contaminants and estimating their bioaccumulation potential (Model lipidler içeren yarı geçirgen zar cihazları: lipofilik kirleticilerin biyoyararlanımını izlemek ve biyobirikim potansiyellerini tahmin etmek için yeni bir yaklaşım). *Chemosphere* 20:533-52.

Hutzler JM, Ring BJ ve Anderson SR (2015) Low-turnover drug molecules: A current challenge for drug metabolism studies (Düşük verimli ilaç molekülleri: İlaç metabolizması çalışmaları için güncel bir zorluk). *Drug Metab Dispos* 43:1917-25.

Isnard P ve Lambert S (1988) Estimating Bioconcentration factors from octanol-water partition coefficient and aqueous solubility (Oktanöl-ksater dağılım katsayısı ve sulu çözünürlükten biyokonsantrasyon faktörlerinin tahmini). *Chemosphere* 17:21-34.

Jimenez BD, Cirimo CP ve McCarthy JF (1987) Effects of feeding and temperature on uptake, elimination and metabolism of benzo(a)pyrene in the bluegill sunfish (*Lepomis macrochirus*) (Mavi solungaçlı güneş balıklarında (*Lepomis macrochirus*) beslenmenin ve sıcaklığın benzo(a)piren alımı, eliminasyonu ve metabolizması üzerindeki etkileri). *Aquat Toxicol* 10:41-57.

Johanning K, Hancock G, Escher B, Adekola A, Bernhard MJ, Cowan-Ellsberry C, Domodoradzki J, Dyer S, Eickhoff C, Embry M, Erhardt S, Fitzsimmons P, Halder M, Hill J, Holden D, Johnson R, Rutishauser S, Segner H, Schultz I ve Nichols J (2012a) Assessment of metabolic stability using the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver S9 fraction (Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) karaciğer S9 fraksiyonu kullanılarak metabolik kararlılığın değerlendirilmesi). *Curr Prot Toxicol* 53:14.10.1-14.10.28.

Johanning K, Hancock G, Escher B, Adekola A, Bernhardt M, Cowan-Ellsberry C, Domoradski J, Dyer S, Eickhoff C, Erhardt S, Fitzsimmons P, Halder M, Nichols J, Rutishauser S, Sharpe A, Segner H, Schultz I ve Embry M (2012b) *In vitro* metabolism using rainbow trout liver S9. Summary report of the HESI Bioaccumulation Committee (Gökkuşluğu alabalığı karaciğeri S9 kullanarak *in vitro* metabolizma. HESI Biyobirikim Komitesi özet raporu). Erişim adresi:

http://www.hesiglobal.org/files/public/Committees/Bioaccumulation/Presentations%20and%20Data%20Resources/S9_report_FINAL_20Nov2012.pdf

Jørgensen SE, Halling-Sørensen B and Mahler H (1998) Handbook of Estimation Methods in Ecotoxicology and Environmental Chemistry (Ekotoksikoloji ve Çevre Kimyasında Tahmin Yöntemleri El Kitabı). Lewis Publishers, Boca Raton, FL, ABD, s.65.

Kamlet MJ, Abboud JLM, Abraham MH ve Taft RW (1983) Linear solvation energy relationships 23. A comprehensive collection of the solvatochromic equation parameters n^* , α and β , and some methods for simplifying the generalized solvatochromic equation (Doğrusal çözünme enerjisi ilişkileri 23. Solvatokromik denklem parametreleri n^* , α ve β 'nin kapsamlı bir koleksiyonu ve genelleştirilmiş solvatokromik denklemi basitçe ifade etmek için bazı yöntemler). J Org Chem 48:2877-87.

Kelly BC, Gobas FAPC ve McLachlan MS (2004) Intestinal absorption and biomagnification of organic contaminants in fish, wildlife and humans (Balıklarda, vahşi yaşamda ve insanlarda organik kirleticilerin bağırsak emilimi ve biyomagnifikasyonu). Environ Toxicol Chem 23:2324-36.

Kenaga EE ve Goring CAI (1980) Relationship between water solubility and soil sorption, octanol-water partitioning and bioconcentration of chemicals in biota (Biyotadaki kimyasalların suda çözünürlüğü ile toprak emilimi, oktanol-su dağılımı ve biyokonsantrasyon arasındaki ilişki). *Kaynak*: Eaton JG, Parrish PRP ve Hendricks AC (Ed.) Aquatic Toxicology (Sucul Toksikoloji), Özel Teknik Yayın 707, Amerikan Test ve Materyaller Topluluğu, Philadelphia, PA, ABD, s. 78-115.

Kiriluk RM, Servos MR, Whittle DM, Cabana G ve Rasmussen JB (1995) Using ratios of stable nitrogen and carbon isotopes to characterise the biomagnification of DDE, Mirex, and PCB in a Lake Ontario pelagic food web (Ontario Gölü pelajik besin ağındaki DDE, Mirex ve PCB biyomagnifikasyonunu karakterize etmek için kararlı nitrojen ve karbon izotoplarının oranlarının kullanılması). Can J Fish Aquat Sci 52:2660-74.

Könemann H ve van Leeuwen C (1980) Toxicokinetics in fish: accumulation and elimination of six chlorobenzenes in guppies (Balıklarda toksikokinetik: lepisteslerde altı klorobenzenin birikim ve eliminasyonu). Chemosphere 9:3-19.

Kristensen P ve Tyle H (1991) The Assessment of Bioaccumulation (Biyobirikim Değerlendirilmesi). *Kaynak*: Nagel R ve Loskill R (Ed.) Bioaccumulation in Aquatic Systems (Sucul Sistemlerde Biyobirikim), VCH, Berlin, Almanya, s. 189-227.

Kubinyi H (1976) Quantitative structure-activity relationships. IV. Non-linear dependence of biological activity on hydrophobic character: a new model (Nicel yapı-aktivite ilişkileri. IV. Biyolojik aktivitenin hidrofobik karaktere doğrusal olmayan bağımlılığı: yeni bir model). Arzneimittel- Forschung/Drug Res 26:1991-7.

Kubinyi H (1977) Quantitative structure-activity relationships. 7. The bilinear model, a new model for nonlinear dependence of biological activity on hydrophobic character (Nicel yapı-aktivite ilişkileri. 7. Çift doğrusal model, biyolojik aktivitenin hidrofobik karaktere doğrusal olmayan bağımlılığı için yeni bir model). J Med Chem 20:625-9.

Kubinyi H ve Kehrholm OH (1978) Quantitative structure-activity relationships VI. Non-linear dependence of biological activity on hydrophobic character: calculation procedures for the bilinear model (Nicel yapı-aktivite ilişkileri VI. Biyolojik aktivitenin hidrofobik karaktere doğrusal olmayan bağımlılığı: çift doğrusal model için hesaplama prosedürleri). *Arzneimittel-Forschung/Drug Res* 28:598-601.

Kubinyi H (1979) Nonlinear dependence of biological activity: on hydrophobic character: the bilinear model (Biyolojik aktivitenin doğrusal olmayan bağımlılığı: hidrofobik karakter üzerine: çift doğrusal model). *Il Farmaco* 34:247-76.

Laue H, Gfeller H, Jenner KJ, Nichols JW, Kern S ve Natsch A (2014) Predicting the bioconcentration of fragrance ingredients by rainbow trout using measured rates of *in vitro* intrinsic clearance (Ölçülen *in vitro* içsel klirens hızları kullanılarak gökkuşağı alabalığı ile koku bileşenlerinin biyokonsantrasyonunun tahmin edilmesi). *Environ Sci Technol* 48:9486-95.

Lee YS, Otton SV, Campbell DA, Moore MM, Kennedy CJ ve Gobas FAPC (2012) Measuring in-vitro biotransformation rates of super hydrophobic chemicals in rat liver S9 fractions using thin-film sorbent-phase dosing (İnce film soğurucu fazlı dozlama kullanılarak sıçan karaciğeri S9 fraksiyonlarında süper hidrofobik kimyasalların in vitro biyodönüşüm hızlarının ölçülmesi). *Environ Sci Technol* 46:410-8.

Lee YS, Lee DH, Delaoulhouze M, Otton SV, Moore MM, Kennedy CJ, Gobas FAPC (2014) In-vitro biotransformation rates in fish liver S9: Effect of dosing techniques (Balık karaciğeri S9 içerisinde in-vitro biyodönüşüm hızları: Dozlama tekniklerinin etkisi). *Environ Toxicol Chem* 33:1885-93.

Leo AJ (1975) Symposium on Structure-Activity Correlations in Studies of Toxicity and Bio-Concentration with Aquatic Organisms (Sucul Organizmalarla Toksikite ve Biyo-Konsantrasyon Çalışmalarında Yapı-Aktivite İlişkileri Sempozyumu). *Great Lakes Araştırması Danışma Kurulu, Burlington, Ontario, Kanada*, s. 151.

Leslie HA, Oosthoek AJP, Busser FJM, Kraak MHS ve Hermens JLM (2002) Biomimetic solid-phase microextraction to predict body residues and toxicity of chemicals that act by narcosis (Narkozla hareket eden kimyasalların vücut kalıntılarını ve toksisitesini tahmin etmek için biyomimetik katı faz mikro özütleme). *Environ Toxicol Chem* 21:229-34.

Lillicrap A, Springer T ve Tyler CR (2016) Tiered assessment strategy for more effective evaluation of bioaccumulation of chemicals in fish (Balıklarda kimyasalların biyobirikiminin daha etkili bir şekilde değerlendirilmesi için kademeli değerlendirme stratejisi). *Regul Toxicol Pharmacol* 75:20-6.

Lu XX, Tao S, Cao J ve Dawson RW (1999) Prediction of fish bioconcentration factors of nonpolar organic pollutants based on molecular connectivity indices (Moleküler bağlantı indekslerine dayalı polar olmayan organik kirleticilerin balık biyokonsantrasyon faktörlerinin tahmini). *Chemosphere* 39:987-99.

Lu X, Tao S, Hu H ve Dawson RW (2000) Estimation of bioconcentration factors of nonionic organic compounds in fish by molecular connectivity indices and polarity correction factors (Moleküler bağlantı indeksleri ve polarite düzeltme faktörleri ile balıkta iyonik olmayan organik bileşiklerin biyokonsantrasyon faktörlerinin tahmini). *Chemosphere* 41:1675-88.

Ma WC (1994) Methodological principles of using small mammals for ecological hazard assessment of a chemical soil pollution, with examples on cadmium and lead (Kimyasal toprak kirliliğinin ekolojik zararlılık değerlendirmesi için küçük memelilerin kullanılmasının metodolojik ilkeleri, kadmiyum ve kurşun üzerine örnekler). *Kaynak:* Donker MH, Eijsackers H ve Heimbach F (Ed.) Ecotoxicology of soil organisms (Toprak organizmalarının ekotoksikolojisi). SETAC Özel Yayın Serisi, Lewis Publishers, Boca Raton, FL, ABD.

Mackay D (1982) Correlation of bioconcentration factors (Biyokonsantrasyon faktörlerinin ilişkisi). *Environ Sci Technol* 16:274-8.

Mackay D, Shiu WY ve Ma KC (2000) Physico-chemical Properties and Environmental Fate and Degradation Handbook (Fiziko-kimyasal Özellikler ve Çevresel Davranış ve Bozunma El Kitabı). CRCnetBASE 2000, Chapman and Hall CRCnetBASE, CRC Press LLC, Boca Raton, FL, ABD (CD-ROM).

Meylan WM, Howard PH, Boethling RS, Aronson D, Printup H ve Gouchie S (1999) Improved method for estimating bioconcentration/bioaccumulation factor from octanol/water partition coefficient (Oktanöl/su dağılım katsayısından biyokonsantrasyon/biyobirikim faktörünü tahmin etmek için geliştirilmiş yöntem). *Environ Toxicol Chem* 18:664-72.

Morrison HA, Gobas FAPC, Lazar R, Whittle DM ve Haffner DG (1997) Development and Verification of a Benthic/Pelagic Food Web Bioaccumulation Model for PCB Congeners in Western Lake Erie (Western Lake Erie içerisinde PCB Konjenerler için Bentik/Pelajik Gıda Ağı Biyobirikim Modelinin Geliştirilmesi ve Doğrulanması). *Environ Sci Technol* 31:3267-73.

Muir DCG, Hobden BR ve Servos MR (1994) Bioconcentration of pyrethroid insecticides and DDT by rainbow trout: uptake, depuration, and effect of dissolved organic carbon (Gökkuşluğu alabalığı tarafından piretroid insektisit ve DDT biyokonsantrasyonu: çözülmüş organik karbonun alımı, temizlenme ve etkisi). *Aquat Toxicol* 29:223-40.

Neely WB, Branson DR ve Blau GE (1974) Partition coefficients to measure bioconcentration potential of organic chemicals in fish (Balıkta organik kimyasalların biyokonsantrasyon potansiyelini ölçmek için dağılım katsayıları). *Environ Sci Technol* 8:1113-5.

Nendza M (1998) Structure – Activity Relationships in Environmental Sciences (Çevre Bilimlerinde Yapı-Aktivite İlişkileri), Chapman and Hall, Londra, İngiltere.

Nichols JW, McKim JM, Andersen ME, Gargas ML, Clewell III HJ ve Erickson RJ (1990) A physiologically based toxicokinetic model for the uptake and disposition of waterborne organic chemicals in fish (Balıklarda suyla taşınan organik kimyasalların alımı ve dağılımı için fizyolojik tabanlı bir toksikokinetik model). *Toxicol Appl Pharmacol* 106:433-47.

Nichols JW, Fitzsimmons PN, Whiteman FW, Dawson TD, Babeu L ve Junemann J (2004) A physiologically based toxicokinetic model for dietary uptake of hydrophobic organic compounds by fish (Balıklar tarafından hidrofobik organik bileşiklerin beslenmeyle alınması için fizyolojik tabanlı toksikokinetik bir model). *Toxicol Sci* 77:206-13.

Nichols JW, Schultz IR ve Fitzsimmons PN (2006) *In vitro- in vivo* extrapolations of quantitative hepatic biotransformation data on fish I. A review of methods, and strategies for incorporating intrinsic clearance estimates into chemical kinetic models (Balıklarda nicel hepatik biyodönüşüm verilerinin *in vitro-in vivo* ekstrapolasyonları I. Kimyasal kinetik modellere içsel klirens tahminlerini dahil etmek için yöntemlerin ve stratejilerin incelemesi). *Aquat Toxicol* 78:74-90.

Nichols JW, Fitzsimmons PN ve Burkhard LP (2007) *In vitro-in vivo*-extrapolation of hepatic biotransformation data for fish: II. Modeled effects on chemical bioaccumulation (Balıklar için hepatik biyodönüşüm verilerinin *in vitro-in vivo*-ekstrapolasyonu: II. Kimyasal biyobirikim üzerinde modellenmiş etkiler). *Environ Toxicol Chem* 26:1304-19.

Nichols JW, Huggett DB, Arnot JA, Fitzsimmons PN ve Cowan-Ellsberry CE (2013) Towards improved models for predicting bioconcentration of well-metabolized compounds by rainbow trout using measured rates of *in vitro* intrinsic clearance (Ölçülen *in vitro* içsel klirens hızlarını kullanarak gökkuşağı alabalığı tarafından iyi metabolize edilmiş bileşiklerin biyokonsantrasyonunu tahmin etmek üzere geliştirilmiş modellere doğru). Environ Toxicol Chem 32:1611-22.

OECD (1981) Biyobirikim. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi No. 305 A-E, Paris, Fransa.

OECD (1996) Biyobirikim: Sürekli Akış Balık Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Kimyasalların Test Edilmesine İlişkin OECD Rehberi No. 305, Paris, Fransa.

OECD (2001) Su Ortamı için Zararlı Kimyasalların Sınıflandırılması için Uyumlaştırılmış Sistemin Kullanımına İlişkin Rehber Doküman. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), OECD Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 27, Paris, Fransa.

OECD (2006) Temsili Tatlı Su Lenitik Saha Testlerine İlişkin Rehber Doküman (Dış Ortam Mikrokozmaları ve Mezokozmaları). OECD Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi No. 53, Paris, Fransa.

OECD (2008) Çökelti içinde yaşayan bentik kara ve tatlı su solucangillerinde biyobirikim. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Kimyasalların Test Edilmesine İlişkin OECD Rehberi No. 315, Paris, Fransa.

OECD (2012a) Balıklarda Biyobirikim: Sulu ve Beslenmeyle Maruz Kalma. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Kimyasalların Test Edilmesine İlişkin OECD Rehberi No. 305, Paris, Fransa.

OECD (2012b) Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları. 2012. Alabalık ve sazan sonuçlarının karşılaştırmalı analizini içeren ek raporla birlikte OECD 305 beslenmeyle maruz kalma biyobirikim balık testi (bölüm 1) için bir halka testinin doğrulama raporu (bölüm II). Test ve değerlendirme serisi No. 175. OECD: Paris, Fransa.

OECD (2015) Test Rehberleri Programı (TRP) için çalışma planı. Temmuz 2015. Erişim adresi: https://www.oecd.org/env/ehs/testing/TGP%20work%20plan_declassification_July%202015.pdf

OECD (2017) (Taslak) OECD Test Rehberi 305'in Balık biyobirikimine ilişkin yönleri hakkında rehber doküman. OECD Çevre, Sağlık ve Güvenlik Yayınları, Test ve Değerlendirme Serisi, Paris, Fransa. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/seriesontestingandassessmentadoptedguidanceandreviewdocuments.htm>

Park JH ve Lee HJ (1993) Estimation of bioconcentration factor in fish, adsorption coefficient of soils and sediments and interfacial tension with water for organic nonelectrolytes based on the linear solvation energy relationships (Doğrusal çözünme enerjisi ilişkilerine dayalı olarak, balıklarda biyokonsantrasyon faktörünün tahmini, toprakların ve çökeltilerin yüzeye tutunma katsayısı ve organik elektrolit olmayanlar için su ile arayüzey gerilimi). Chemosphere 26:1905-16.

Parkerton T, Letkinski D, Febbo E, Davi R, Dzamba C, Connelly M, Christensen K ve Peterson D (2001) A practical testing approach for assessing bioaccumulation potential of poorly water soluble organic chemicals (Suda çözünürlüğü düşük organik kimyasalların biyobirikim potansiyelini değerlendirmek için pratik bir test yaklaşımı). SETAC Avrupa yıllık

toplantısında sunum, Madrid, İspanya. Taslak No. 00.7014. Annandale NJ: ExxonMobil Biomedical Sciences Inc.

Parkerton T, Letinski D, Febbo E, Blattenberger R, Connelly Mand Comber M (2005) An Assessment of the Bioconcentration of Isoalkanes by Fish, SETAC, Lille (Balıklar Tarafından İzalkanların Biyokonsantrasyonunun Bir Değerlendirmesi, SETAC, Lille).

Parkerton TF, Arnot JA, Weisbrod AV, Russom C, Hoke RA, Woodburn K, Traas T, Bonnell M, Burkhard LP, Lampi MA (2008) Guidance for evaluating in vivo fish bioaccumulation data (İn vivo balık biyobirikim verilerinin değerlendirilmesi için rehber). Integr Environ Assess Manag 4:139-55.

Pärt P (1990) The perfused fish gill preparation in studies of the bioavailability of chemicals (Kimyasalların biyoyararlanım çalışmalarında yayılmış balık solungacı hazırlanması). Ecotoxicol Environ Saf 19:106-15.

Pärt P, Saarikoski J, Tuurala H ve Havaste K (1992) The absorption of hydrophobic chemicals across perfused rainbow trout gills: methodological aspects (Hidrofobik kimyasalların yayılmış gökkuşağı alabalığı solungaçlarında emilimi: metodolojik yönler). Ecotoxicol Environ Saf 24:275-86.

Pavan M, Netzeva TI ve Worth AP (2006) EUR Technical Report 22327 EN. Review of QSAR Models for Bioconcentration. Ispra, Italy (EUR Teknik Rapor 22327 EN. Biyokonsantrasyon için QSAR Modellerinin İncelenmesi. Ispra, İtalya).

Pedersen F, Tyle H, Niemelä JR, Guttmann B, Lander L ve Wedebrand A (1995) Environmental Hazard Classification – data collection and interpretation guide (2nd edition) (Çevresel Zararlılık Sınıflandırması - veri toplama ve yorumlama rehberi (2. baskı)). TemaNord 1995:581.

Petty JD, Poulton BC, Charbonneau CS, Huckins JN, Jones SB, Cameron JT ve Prest HF (1998) Determination of bioavailable contaminants in the Lower Missouri River following the flood of 1993 (1993 selini takiben Aşağı Missouri Nehri'ndeki biyoyararlanımlı kirletici maddelerin belirlenmesi). Environ Sci Technol 32:837-42.

Rane A, Wilkinson GR, Shand DG (1977) Prediction of hepatic extraction ratio from in vitro measurement of intrinsic clearance (İn vitro iç klirens ölçümünden hepatic özütlenme hızının tahmini). J Pharmacol Exp Ther 200:420-4.

Rasmussen JB, Rowan DJ, Lean DRS ve Carey JH (1990) Food chain structure in Ontario lakes determine PCB levels in lake trout (*Salvelinus namaycush*) and other pelagic fish (Ontario göllerindeki besin zinciri yapısının, göl alabalığındaki (*Salvelinus namaycush*) ve diğer pelajik balıklardaki PCB seviyelerini belirlemesi). Can J Fish Aquacult Sci 47:2030-8.

Riley RJ, McGinnity DF ve Austin RP (2005) A unified model for predicting human hepatic, metabolic clearance from in vitro intrinsic clearance data in hepatocytes and microsomes (Hepatositlerde ve mikrozomlarda in vitro içsel klirens verilerinden insan hepatic, metabolik klirensini tahmin etmek için birleşik bir model). Drug Metab Distrib 33:1304-11.

Rodrigues AD (1997) Preclinical drug metabolism in the age of high-throughput screening: an industrial perspective (Yüksek verimli tarama çağında klinik öncesi ilaç metabolizması: endüstriyel bir bakış açısı). Pharm Res 14:1504-10.

Sabljić A ve Protić M (1982) Molecular connectivity: a novel method for prediction of bioconcentration factor of hazardous chemicals (Moleküler bağlantı: zararlı kimyasalların biyokonsantrasyon faktörünün tahmini için yeni bir yöntem). Chem Biol Interact 42:301-10.

Sabljić A (1987) The prediction of fish bioconcentration factors of organic pollutants from the molecular connectivity model. Prediction (Moleküler bağlantı modelinden organik kirleticilerin balık biyokonsantrasyon faktörlerinin tahmini. Tahmin). Zeitschrift für die gesamte Hygiene und ihre Grenzgebiete 33:493-6.

Schrap SM ve Opperhuizen A (1990) Relationship between bioavailability and hydrophobicity: reduction of the uptake of organic chemicals by fish due to the sorption of particles (Biyoyararlanım ve hidrofobiklik arasındaki ilişki: taneciklerin soğrulması nedeniyle balıklar tarafından organik kimyasalların alınımının azalması). Environ Toxicol Chem 9:715-24.

Schüürmann G ve Klein W (1988) Advances in bioconcentration prediction (Biyokonsantrasyon tahmininde gelişmeler). Chemosphere 17:1551-74.

Sharpe S ve Mackay D (2000) A framework for evaluating bioaccumulation in food webs (Besin ağlarında biyobirikimi değerlendirmek için bir çerçeve). Environ Sci Technol 34:2373-9.

Sibley PK, Benoit DA, Balcer MD, Phipps GL, West CW, Hoke RA ve Ankley GT (1999) In situ bioassay chamber for assessment of sediment toxicity and bioaccumulation using benthic invertebrates (Bentik omurgasızlar kullanılarak çökelti toksisitesi ve biyobirikim değerlendirmesi için in situ biyo-analiz odası). Environ Toxicol Chem 18:2325-36.

Sijm DTHM (1991) Extrapolating the laboratory results to environmental conditions (Laboratuvar sonuçlarının çevresel koşullara göre ekstrapolasyonu). *Kaynak:* Nagel R ve Loskill R (Ed.) Bioaccumulation in Aquatic Systems. Contributions to the Assessment. Proceedings of an International Workshop (Sucul Türlerde Biyobirikim. Değerlendirmeye Katkılar. Uluslararası Bir Çalıştayın Bildirileri), Berlin, 1990, VCH Publishers, Weinheim, Almanya, s. 151-60.

Sijm DTHM, Broersen KW, de Roode DF ve Mayer P (1998) Bioconcentration kinetics of hydrophobic chemicals in different densities of *Chlorella pyrenoidosa* (Farklı *Chlorella pyrenoidosa* yoğunluklarında hidrofobik kimyasalların biyokonsantrasyon kinetiği). Environ Toxicol Chem 17:1695-704.

Sijm D, de Bruijn J, de Voogt P ve de Wolf W (1997) Biotransformation in environmental risk assessment (Çevresel risk değerlendirmesinde biyodönüşüm). SETAC-Europe, Brüksel, s. 130.

Sijm DTHM ve Opperhuizen A (1989) Biotransformation of organic chemicals by fish: a review of enzyme activities and reactions (Organik kimyasalların balıklar tarafından biyodönüşümü: enzim aktiviteleri ve reaksiyonlarının gözden geçirilmesi). *Kaynak:* Hutzinger O (Ed.) Handbook of Environmental Chemistry, Volume 2 Part E: Reactions and Processes (Çevre Kimyası El Kitabı, Cilt 2 Bölüm E: Tepkimeler ve Süreçler). Springer-Verlag, Heidelberg, Almanya, s. 163-235.

Sijm DTHM, Verberne ME, Dejonge WJ, Pärt P and Opperhuizen A (1995) Allometry in the uptake of hydrophobic chemicals determined in vivo and in isolated perfused gills (İn vivo ve izole yayılmış solungaçlarda belirlenen hidrofobik kimyasalların alınımında allometri). Toxicol Appl Pharmacol 131:130-5.

Sijm DTHM, van Wezel AP ve Crommentuijn T (2001) Environmental risk limits in The Netherlands (Hollanda'daki çevresel risk sınır değerleri). *Kaynak:* Posthuma L, Suter GW II ve Traas TP (Ed.) Species Sensitivity Distributions in Ecotoxicology (Ekotoksikolojide Tür Hassasiyeti Dağılımları), CRC Press, Boca Raton, FL, ABD.

Södergren A (1987) Solvent filled dialysis membranes simulate uptake of pollutants by aquatic organisms (Çözücü dolgulu diyaliz zarlarının sucul organizmalar tarafından kirletici maddelerin alımını temsili). *Environ Sci Technol* 21:855-59.

Spacie A ve Hamelink JL (1982) Alternative models for describing the bioconcentration of organics in fish (Balıklarda organiklerin biyokonsantrasyonunu açıklamak için alternatif modeller). *Environ Toxicol Chem* 1:309-20.

Springer TA (2006) A Proposal for a Screening Bioconcentration Study (Bir Tarama Biyokonsantrasyon Çalışması Önerisi). Wildlife International Ltd., Easton, ABD.

Stadnicka J, Schirmer K ve Ashauer R (2012) Predicting Concentrations of Organic Chemicals in Fish by Using Toxicokinetic Models (Toksikokinetik Modeller Kullanarak Balıklarda Organik Kimyasalların Konsantrasyonlarının Tahmin Edilmesi). *Environ Sci Technol* 46:3273-80.

Stadnicka-Michalak J, Tanneberger K, Schirmer K ve Ashauer R (2014) Measured and modeled toxicokinetics in cultured fish cells and application to in vitro – in vivo toxicity extrapolation (Kültürlenmiş balık hücrelerinde ölçülmüş ve modellenmiş toksikokinetik ve in vitrodan in vivo'ya toksisite ekstrapolasyonuna uygulama). *PLoS ONE* 9:e92303.

Stewart S, Aronson D, Meylan WHoward P, Penye M ve Parkerton T (2005) Improved BCF Prediction for Hydrocarbons, SETAC North America 26th Annual Meeting, 13-17 November 2005, Baltimore (Hidrokarbonlar için Geliştirilmiş BCF Tahmini, SETAC Kuzey Amerika 26. Yıllık Toplantısı, 13-17 Kasım 2005, Baltimore).

Syracuse Research Corporation, Biyokonsantrasyon Faktörü Veri Tabanı. (<http://www.syrres.com/esc/default1.htm>).

Syracuse Research Corporation, Biyokonsantrasyon Faktörü Programı (BCFWIN), Versiyon 2.15. Belirtilen adresten ücretsiz olarak indirilebilir: <http://www.epa.gov/oppt/exposure/docs/episuitedi.htm>.

Tao S, Hu H, Xu F, Dawson R, Li B ve Cao J (2000) Fragment constant method for prediction of fish bioconcentration factors of non-polar chemicals (Polar olmayan kimyasalların balık biyokonsantrasyon faktörlerinin tahmini için parça sabiti yöntemi). *Chemosphere* 41:1563-8.

Tao S, Hu H, Xu F, Dawson R, Li B ve Cao J (2001) QSAR modelling of bioconcentration factors in fish based on fragmental constants and structural correction factors (Parçalı sabitlere ve yapısal düzeltme faktörlerine dayalı olarak balıklarda biyokonsantrasyon faktörlerinin QSAR modellenmesi). *J Environ Sci Health B36*:631-49.

Thomann RV, Connolly JP ve Parkerton TF (1992) An equilibrium model of organic chemical accumulation in aquatic food webs with sediment interaction (Sucul besin ağlarında çökelti etkileşimli organik kimyasal birikimin bir denge modeli). *Environ Toxicol Chem* 11:615-29.

Tolls J, Haller M, Labee E, Verweij M ve Sijm DTHM (2000) Experimental determination of bioconcentration of the nonionic surfactant alcohol ethoxylate (İyonik olmayan yüzey aktif madde alkol etoksilatın biyokonsantrasyonunun deneysel olarak belirlenmesi). *Environ Toxicol Chem* 19:646-53.

Traas TP, van Wezel AP, Hermens JLM, Zorn M, Van Hattum AGM ve Van Leeuwen CJ (2004) Prediction of environmental quality criteria from internal effect concentrations for organic chemicals with a food web model (Bir besin ağı modeli ile organik kimyasallar için iç etki konsantrasyonlarından çevresel kalite kriterlerinin tahmini). *Environ Toxicol Chem* 23:2518-27.

ABD-EPA [ABD Çevre Koruma Ajansı]. ECOTOX Veritabanı (www.epa.gov/ecotox).

ABD-EPA [ABD Çevre Koruma Ajansı] (1995) Sucul Toksikite Bilgilerinin Edinilmesi AQUIRE Veritabanı. Duluth, MN, ABD.

ABD-EPA [ABD Çevre Koruma Ajansı] (1996a) Ekolojik Etkiler Test Rehberleri. OPPTS 850.1730 Balık BCF. Genel Taslak. Önleme, Pestisitler ve Toksik Maddeler Ofisi. Washington, D.C., ABD.

ABD-EPA [ABD Çevre Koruma Ajansı] (1996b) Ekolojik Etkiler Test Rehberleri. OPPTS 850.1710 İstiridye BCF. Genel Taslak. Önleme, Pestisitler ve Toksik Maddeler Ofisi. Washington, D.C., ABD.

ABD-EPA [ABD Çevre Koruma Ajansı] (1999) Kalıcı, biyobirikimli ve toksik yeni kimyasal maddeler kategorisi. Feb Reg 64:60194-60204.

ABD-EPA [ABD Çevre Koruma Ajansı] (2000a) Çökelti Kalitesinin Değerlendirmesi Amacıyla Biyobirikim Testi ve Yorumlanması: Durum ve İhtiyaçlar. Washington, D.C., ABD.

US-EPA [ABD Çevre Koruma Ajansı] (2000b) İnsan sağlığının korunması amacıyla ortam suyu kalitesi kriterlerinin türetilmesi için metodoloji. EPA-822-B-00-004. Washington, D.C., ABD.

Vaes WHJ, Hamwijk C, Urrestarazu Ramos E, Verhaar HJM ve Hermens JLM (1996) Partitioning of organic chemicals to polyacrylate coated solid phase microextraction (SPME) fibers: Kinetic behavior and quantitative structure-property relationships (Organik kimyasalların poliakrilat kaplı katı faz mikro özütleme (SPME) liflerine dağılımı: Kinetik davranış ve nicel yapı-özellik ilişkileri). Anal Chem 68:4458-62.

Vaes WHJ, Urrestarazu Ramos E, Hamwijk C, van Holsteijn I, Blaauw BJ, Seinen W, Verhaar HJM ve Hermens JLM (1997) Solid Phase Microextraction as a tool to determine membrane/water partition coefficients and bioavailable concentrations in in vitro systems (İn vitro sistemlerde membran/su dağılım katsayılarını ve biyoyararlanımlı konsantrasyonları belirlemek için bir araç olarak Katı Faz Mikro Özütleme). Chem Res Toxicol 10:1067-72.

Vaes WHJ, Urrestarazu Ramos E, Verhaar HJM, Cramer CJ ve Hermens JLM (1998a) Understanding and estimating membrane-water partition coefficients: Approaches to derive quantitative structure property relationships (Membran-su dağılım katsayılarını anlama ve tahmin etme: Nicel yapı özellik ilişkilerini türetme yaklaşımları). Chem Res Toxicol 11:847-54.

Vaes WHJ, Urrestarazu Ramos E, Verhaar HJM ve Hermens JLM (1998b) Acute toxicity of non-polar versus polar narcotics: Is there a difference? (Polar olmayan ve polar narkozun akut toksisitesi: Bir fark var mı?) Environ Toxicol Chem 17:1380-4.

Van Wezel AP, Cornelissen G, Van Miltenburg JK ve Opperhuizen A (1996) Membrane burdens of chlorinated benzenes lower the main phase transition temperature in dipalmitoyl-phosphatidylcholine vesicles: Implications for toxicity by narcotic chemicals (Klorlu benzenlerin membran yükleri, dipalmitoil-fosfatidilkolin taşıyıcılarında ana faz geçiş sıcaklığını düşürür: Narkotik kimyasallar tarafından toksisite için çıkarımlar). Environ Toxicol Chem 15:203-12.

Vasiluk L, Pinto LJ ve Moore MM (2005) Oral bioavailability of glyphosate: studies using two intestinal cell lines (Glifosatın oral biyoyararlanımı: iki bağırsak hücre hattı kullanan çalışmalar). *Environ Toxicol Chem* 24:153-60.

Verhaar HJM, De Jongh J ve Hermens JLM (1999) Modeling the bioconcentration of organic compounds by fish: A novel approach (Organik bileşiklerin balıklarla biyokonsantrasyonunun modellenmesi: Yeni bir yaklaşım). *Environ Sci Technol* 33:4069-72.

Veith GD, DeFoe DL ve Bergstedt BV (1979) Measuring and estimating the bioconcentration factor of chemicals on fish (Balıklar üzerinde kimyasalların biyokonsantrasyon faktörünün ölçülmesi ve tahmin edilmesi). *J Fish Res Board Can* 36:1040-8.

Veith GD ve Kosian P (1983) Estimating bioconcentration potential from octanol/water partition coefficients (Oktanöl/su dağılım katsayılarından biyokonsantrasyon potansiyelinin tahmini). *Kaynak: Mackay D, Paterson S, Eisenreich SJ, Simons MS (Ed.) Physical behavior of PCBs in the Great Lakes (Great Lakes içerisinde PCB maddelerin fiziksel davranışı). Ann Arbor Sciences Publishers, Ann Arbor, Michigan, ABD, s. 269-82.*

Verbruggen EMJ (1999) Predicting hydrophobicity, bioconcentration and baseline toxicity of complex organic mixtures (Kompleks organik karışımların hidrofobikliği, biyokonsantrasyonu ve temel toksisitesinin tahmini). Utrecht Üniversitesi (Doktora tezi). Utrecht, Hollanda.

Verbruggen EMJ, Vaes WHJ, Parkerton TF ve Hermens JLM (2000) Polyacrylate-coated SPME fibers as a tool to simulate body residues and target concentrations of complex organic mixtures for estimation of baseline toxicity (Temel toksisitenin tahmini için vücut kalıntıları ve karmaşık organik karışımların hedef konsantrasyonlarının temsili için taşıyıcı olarak poliakrilat kaplı SPME lifleri). *Environ Sci Technol* 34:324-31.

Versonnen B, Arijs K, Jeliaskova N ve Vangheluwe M (2006) Development of a fish bioconcentration factor (BCF) gold standard database - Excel Database Manual (Bir balık biyokonsantrasyon faktörü (BCF) altın standart veritabanının geliştirilmesi - Excel Veritabanı El Kitabı). CEFIC- LRI projesi.

Voutsas E, Magoulas K ve Tassios D (2002) Prediction of the bioaccumulation of persistent organic pollutants in aquatic food webs (Sucul besin ağlarında kalıcı organik kirleticilerin biyobirikiminin tahmini). *Chemosphere* 48:645-51.

Wei D, Zhang A, Wu C, Han S ve Wang L (2001) Progressive study and robustness test of QSAR model based on quantum chemical parameters for predicting BCF of selected polychlorinated organic compounds (PCOCs) (Seçilmiş poliklorlu organik bileşiklerin (PCOC) BCF değerini tahmin etmek için kuantum kimyasal parametrelerine dayalı QSAR modelinin aşamalı çalışması ve kapsamlılık testi). *Chemosphere* 44:1421-8.

Weisbrod A, Shea D, LeBlanc G, Moore M ve Stegeman JJ (2000) Organochlorine bioaccumulation and risk for whales in a northwest Atlantic food web (Kuzeybatı Atlantik besin ağındaki balinalar için organik klor biyobirikimi ve riski). *Marine Environ Res* 50:440-1.

Weisbrod AV, Shea D, Moore MJ ve Stegeman JJ (2001) Species, tissue and gender-related organochlorine bioaccumulation in white-sided dolphins, pilot whales and their common prey in the northwest Atlantic (Kuzeybatı Atlantik'te beyaz kenarlı yunuslarda, pilot balinalarda ve ortak avlarında tür, doku ve cinsiyete bağlı organoklor biyobirikimi). *Marine Environ Res* 51:440-1.

Weisbrod AV, Burkhard LP, Arnot J, Mekenyan O, Howard PH, Russom C, Boethling R, Sakuratani Y, Traas T, Bridges T, Lutz C, Bonnell M, Woodburn K ve Parkerton T (2006) Workgroup Report: Review of Fish Bioaccumulation Databases used to identify Persistent, Bioaccumulative, Toxic Substances (Çalışma Grubu Raporu: Kalıcı, Biyobirikimli, Toksik Maddeleri tanımlamak için kullanılan Balık Biyobirikim Veritabanlarının İncelemesi). *Environ Health Persp Online* (ehponline.org) 30 Ekim 2006.

Wood CM, Kelly SP, Zhou B, Fletcher M, O'Donnell M, Eletti B ve Pärt P (2002) Cultured gill epithelia as models for the freshwater fish gill (Tatlı su balığı solungaçları için model olarak kültürlenmiş solungaç epiteli). *Biochim Biophys Acta (BBA) - Biomembranes* 1566:72-83.

Yalkowsky SH, Orr RJ ve Valvani SC (1979) Solubility and Partitioning 3. The solubility of halobenzenes in water (Çözünürlük ve Dağılım 3. Halobenzenlerin sudaki çözünürlüğü). *Ind Eng Chem Fundam* 18:351-53.

Zok S, Görge G, Kalsch W ve Nagel R (1991) Bioconcentration, metabolism, and toxicity of substituted anilines in the zebrafish (*Brachydanio rerio*) (Zebra balıklarında (*Brachydanio rerio*) yer değiştirmiş anilinlerin biyokonsantrasyonu, metabolizması ve toksisitesi). *Sci Total Environ* 109/110:411-21.

R.7.10.8 Karasal biyobirikim

Karasal organizmalardaki madde birikimi hakkındaki bilgiler, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin bir parçası olarak yaban hayat ve insan besin zincirinin maruz kalma modellemesi ve PBT değerlendirmesi için önemlidir. Bu rapor, açık bir strateji ve standartlaştırılmış test rehberleriyle ilgili olabileceğinden, toprak solucanları ve bitkiler için test ve test dışı yöntemlerden toplanabilecek verileri dikkate almaktadır. Ayrıca karasal besin zincirlerindeki birikim kısaca ele alınmaktadır. Toprak solucanlarındaki birikime ilişkin bilgiler ikincil zehirlenmenin değerlendirilmesi için kullanılır ve aynı zamanda uzun süreli toprak organizması toksisite testi kararlarında bir faktör olabilir. Bitki alımına ilişkin bilgiler, insan besin ürünlerindeki ve sığırlar için yemlerdeki konsantrasyonları tahmin etmek için kullanılır. Giderlere dökülen ürünlerde kullanılan maddeler için, arıtma çamuru yoluyla toprağın dolaylı maruz kalmasının değerlendirilmesi önemlidir.

Diğer ilgili ortamlarda birikim (örneğin, bir maddenin ekinlerden sığırlara ve sığırlardan süte aktarılması) Bölüm R.16'da ele alınırken, hava soluyan türlerdeki birikim de Bölüm [R.7.10.15](#) "Biyobirikim değerlendirmesinde memeli toksikokinetik verileri" ve [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.11, Bölüm R.11.4.1.2.9 içerisinde ele alınmaktadır.

Ayrıca, karasal biyobirikim kavramının, ilgili olduğu yerlerde sucul ortam için aynı olan kuralların üzerine inşa edildiği, ancak karasal biyobirikimi destekleyen veri tabanının çok daha küçük olduğu belirtilmektedir. Karasal ortamdaki biyobirikim değerlendirmeleri, sucul ortam için gerçekleştirilen benzerlerine göre daha belirsizdir.

R.7.10.8.1 Karasal biyobirikim için kullanılan tanımlar ve ölçümler

Toprakta yaşayan bir organizma tarafından bir maddenin alımı, hem maddenin hem de toprağın özellikleri, organizmanın biyolojisi ve iklimsel faktörler tarafından belirlenen karmaşık bir süreçtir (UBA, 2003). Risk değerlendirmesi için bu karmaşıklık göz ardı edilme eğilimindedir ve süreç basit oranlarla ifade edilir.

Topraktan karasal türlere biyobirikim, aşağıdaki şekilde tanımlanan şekilde biyotadan toprağa birikim faktörü ile ifade edilir:

$$BSAF = \frac{C_0}{C_s}$$

burada, BSAF biyota-toprak birikim faktörü (birimsiz), C_0 tüm organizmadaki madde konsantrasyonu (mg/kg yaş ağırlık), C_s tüm topraktaki (yani gözenek suyu ve toprak) madde konsantrasyonudur (mg/kg yaş ağırlık). Genellikle BSAF değerleri, daha bilgilendirici sonuçlar elde etmek için organizmaların lipid içeriğine ve toprağın organik karbon içeriğine normalize edilir.

Alternatif olarak, organizmadaki konsantrasyon, toprak gözenek suyundaki konsantrasyonla ilişkili olabilir. Ortaya çıkan oran bir biyokonsantrasyon faktörüdür ve şu şekilde tanımlanır:

$$BCF = \frac{C_0}{C_{pw}}$$

burada, BCF biyokonsantrasyon faktörü (L/kg), C_0 tüm organizmadaki madde konsantrasyonu (mg/kg yaş ağırlık), C_{pw} toprak gözenek suyundaki madde konsantrasyonudur (mg/L).

BCF'nin ölçümü, yalnızca gözenek suyundan birikimin toprağın yutulmasından kaynaklanan birikime baskın olmasının beklendiği belirli durumlar için geçerlidir.

Bu dağılım katsayıları, kirli toprakta yaşayan bir organizmadaki bir maddenin konsantrasyonunu tahmin etmek için kullanılabilir.

Biyomagnifikasyon faktörü (BMF) ve trofik magnifikasyon faktörü (TMF), karasal besin zincirindeki bir maddenin aktarımını ifade etmek için kullanılan faktörlerdir. Biyomagnifikasyon faktörü şu şekilde tanımlanır:

$$BMF = \frac{C_{yirtıcı}}{C_{av}}$$

burada BMF biyomagnifikasyon faktörüdür ve $C_{yirtıcı}$ ve C_{av} bir yırtıcı ve avının tüm organizmasındaki (mg/kg yaş ağırlık) madde konsantrasyonudur. Karşılaştırılabilir sonuçlar elde etmek için, BMF genellikle hem yırtıcı hem de avın lipid içeriğine normalize edilir.

Trofik magnifikasyon faktörü, bu organizmaların trofik seviyesinin bir fonksiyonu olarak, tüm besin zincirindeki organizmaların log-dönüştürülmüş normalize konsantrasyonlarının eğiminden elde edilir. TMF aşağıda belirtilen şekilde hesaplanır:

$$TMF = 10^{e_{\text{ğim}}}$$

R.7.10.8.2 Karasal biyobirikim hakkında rehberin amacı

Bu belgenin amacı, kayıt ettirenlere, karasal biyobirikimle ilgili bir madde hakkındaki tüm mevcut verilerin değerlendirilmesi konusunda rehberlik sağlamak ve daha ileri testlere (toprak solucanları veya uygun olduğu durumlarda bitkiler ile) ihtiyaç duyulduğuna dair bir karar verilmesine olanak tanımaktır.

R.7.10.9 Karasal biyobirikim üzerine bilgi gereklilikleri

Karasal biyobirikime ilişkin veriler KKDİK Yönetmeliği Ek 7-10 içerisinde standart bir bilgi gerekliliği olarak açıkça belirtilmemiştir, ancak ikincil zehirlenme ve çevre yoluyla insanlar için dolaylı maruz kalmaya ilişkin maruz kalma değerlendirme, KKDİK Yönetmeliği Ek 1 uyarınca 10 ton/yıl veya üzeri seviyede kimyasal güvenlik değerlendirmesinin standart bir unsurudur. Böyle bir değerlendirme yapma ihtiyacı a) madde özelliklerine (PBT/vPvB özellikleri dahil) ve b) ilgili salım ve maruz kalmaya (daha fazla ayrıntı için bkz. Bölüm R.16) dayalı olacaktır. Bir değerlendirme gerekliyse, bu, toprak solucanlarında ve bitkilerde tahmini bir birikimi içerecektir.

KKDİK Yönetmeliği Ek 10 Bölüm 9.3.4, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonucuna bağlı olarak 1000 ton/yıl veya daha yüksek miktarlarda imal veya ithal edilen maddeler için çevresel davranış ve hareket hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulabileceğini belirtir. Bu, toprak solucanı ve/veya bitki birikimi için bir test içerebilir.

Ayrıca, kimyasal güvenlik değerlendirmesi (KGD) gerçekleştiren bir kayıt ettiren, PBT/vPvB değerlendirmesinde kesin bir sonuca varılamayacağını belirlerse ve PBT/vPvB değerlendirmesi, bir sonuca ulaşmak için biyobirikim hakkında ek bilgi gerektiğini gösterirse, kayıt ettiren tarafından gerekli ek bilgiler sağlanmalıdır.

Bu yükümlülük ≥ 10 ton/yıl miktarındaki tüm kayıtlar için geçerlidir (daha fazla ayrıntı için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.11). Böyle bir durumda, test gerçekleştirmekten veya diğer gerekli bilgileri oluşturmaktan kaçınmanın tek yolu, maddeyi "PBT veya vPvB gibi" ele almaktır (ayrıntılar için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.11).

R.7.10.10 Karasal biyobirikim hakkında mevcut bilgiler

Toprak solucanı biyobirikim testi

OECD Test Rehberi 317 (OECD, 2010), kararlı nötr organik maddeler, metalo-organik maddeler, metaller ve diğer eser elementler için geçerli olan, toprak solucanları için standart bir test rehberidir. İlke olarak, solucanlar (örn. *Eisenia fetida*), solucanlar için toksik olmadığı gösterilen tek bir test konsantrasyonunda iyi tanımlanmış yapay bir toprak substratında veya doğal toprakta test maddesine maruz bırakılır. 21 gün (toprak solucanları) veya 14 gün (enchytraeid) maruz kaldıktan sonra, solucanlar 21 gün (toprak solucanları) veya 14 gün (enchytraeid) için temiz bir toprağa aktarılır. Hem alım hem de eliminasyon aşamalarında, solucanlarda test maddesinin konsantrasyonu birkaç zaman noktasında izlenir.

Kararlı hale ulaşıldığında, kararlı hal biyota-toprak birikim faktörü (BSAF_{ss}) hesaplanırken, kinetik biyota-toprak birikim faktörü (BSAF_k), alım ve temizlenme hızı sabitlerinden hesaplanır.

Bağırsak içeriklerinin solucanlar tarafından biriktirilen toplam madde miktarına katkısı, özellikle dokularda kolayca alınamayan ancak toprağa güçlü bir şekilde tutunan maddeler için önemli olabilir. Bu nedenle, solucanların analizden önce dışkılamalarına izin verilir, bu da maddenin gerçek alımı hakkında daha fazla bilgi verir (ancak toprağa tutunan eser miktarlar, dışkılamadan sonra bile solucanlarda kalabilir). Bu, biyobirikim değerlendirmesi için önemli olan solucanlar tarafından maddenin gerçek alımının bir ölçüsünü elde etmek içindir. Bununla birlikte, ikincil zehirlenme düşünülürse, solucanlar bağırsak içeriği ile yutulur ve bu, maruz kalma değerlendirmesinde dikkate alınmalıdır. İkincil zehirlenme değerlendirmesi için, çalışmada kullanılan test konsantrasyonunun çevreyle ilgili olup olmadığı dikkate alınmalıdır. Daha yüksek bir test konsantrasyonu kullanılmışsa, kirlenmiş toprak içeren bağırsak içeriklerini içeren BSAF değeri kullanmak aşırı koruyucu olabilir.

Bu, özellikle bağırsak içeriğinde kirlenmiş toprak bulunan alım aşamasında numune alınmış solucanlar için önemlidir. Kirlenmiş bağırsak içeriği temizlenme aşamasında temiz toprakla değiştirilir değiştirilmez, kimyasal analizden önce dışkılama artık gerekli değildir (bu durumda, bağırsak içeriğinin ağırlığının, kirlenmemiş toprakla test maddesi konsantrasyonunun seyrelmesini karşılayacağı tahmin edilmektedir.).

ASTM E1676-04, 42 güne kadar olan süreler boyunca *Eisenia fetida* ve *Enchytraeus albidus* annelidleri ile biyobirikim testi için benzer bir yöntemi açıklamıştır (ASTM, 2004).

İlgili veriler ayrıca saha çalışmalarından veya toprak solucanı toksisite çalışmalarından da elde edilebilir (örneğin, doku konsantrasyonları ölçülüyorsa). Bir maddenin biyobirikim potansiyeli hakkında anlamlı bilgiler sağlamak için bu çalışmalardan elde edilen verilerin uygunluğu, durum bazında değerlendirilmelidir.

Toprak solucanları için (Q)SAR modelleri

Jager (1998) modeli, toprak solucanı biyokonsantrasyon faktörünün ilk değerlendirmesi için makul bir en kötü durum olarak önerilmektedir ve bu aracın bir açıklamasını sağlamaktadır. Gereken tek girdi terimi, oktanol-su dağılım katsayısıdır (K_{ow}) ve $\log K_{ow}$ için 0-8 uygulama aralığı önerilir. Klorobenzenler, pestisitler, PCB, PAH ve klorofenoller içeren bir veri setinden geliştirilmiştir. Model, çoğunlukla nötr organik bileşiklerle sınırlıdır ve biyomagnifikasyon veya biyodönüşümü açıkça dikkate almamaktadır. Gerekli şekilde ele alındığında, belirli iyonlaşabilir organiklere uygulanabilir. Model içindeki kimyasal grupların dar olması nedeniyle, model tahminlerinin bazı sınırlamaları olduğu kabul edilmelidir.

K_{ow} değerinin biyokonsantrasyonun iyi bir göstergesi olmadığı durumlarda (örn. iyonik organik maddeler, metaller veya tercihen lipidlere dağılmayan diğer maddeler için), ya o madde veya madde sınıfı için alternatif bir model veya yapısal analoglardan tahmin edilen deneysel bir BCF kullanılmalıdır. Örneğin, Smit ve ark. (2000) sınırlı sayıda metal için farklı denklemlerin bir incelemesini sağlar.

Toprak solucanlarının bentik organizmalarla karşılaştırılması

Çökeltide yaşayan uygun omurgasız türleri (örn. kara ve tatlı su solucangilleri *Lumbriculus variegatus*) ile biyobirikim testlerinin sonuçları, eğer mevcutsa, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında kullanılabilir yararlı karşılaştırmalı bilgiler sağlayabilir. Bu testle ilgili daha fazla bilgi sucul birikim bölümünde verilmektedir. Bununla birlikte, karasal ve bentik türler için biyobirikim verilerinin kapsamlı bir karşılaştırması şu anda bulunmadığı için dikkatli olunmalıdır.

Karasal bitkiler

Bitkiler ve ekinler, maddelerin aşağıdakilerden aktarılmasıyla kirlenebilir:

- kökler ve yer değiştirme yoluyla toprak (katılar ve gözenek suyu dahil),
- gaz fazı veya tanecik birikimi yoluyla hava ve
- yapraklara sıçrayan ve yapışan toprak parçacıkları.

Bu yolları değerlendirme ihtiyacı, kimyasal güvenlik değerlendirmesi için benimsenen yaklaşımla belirlenir (bkz. Bölüm R.16).

Bitki alım testi

Şu anda, bitkilerde biyobirikim ölçütleri (örneğin BCF, BAF) geliştirmek için özel olarak tasarlanmış standartlaştırılmış test rehberleri yoktur (Gobas ve ark., 2016). Aşağıdaki tartışmada basitlik elde etmek için, BAF terimi bitkilerde kullanılmış olan tüm potansiyel biyobirikim ölçümlerini temsil etmek için vekil olarak kullanılacaktır.

Maddelerin bitki alımını, yer değiştirme ve metabolizmasını ele alan bir rehber (örn. USEPA 2012), bir maddenin bitkilerde birikip birikmediğini belirlemede faydalı veriler sağlayabilir. USEPA test rehberi (2012) OCSPP 850.4800, insan ve çiftlik hayvanları gıda güvenliğini belirlemede kullanılmak üzere kök veya yaprak maruz kalması altındaki bitkinin çevresel matrislerinde ve farklı bileşenlerinde bir maddenin dağılımına ilişkin bir kütle dengesi çalışması yürütmek için prosedürlerin ana hatlarını belirtir.

Bu rehberler bitkilerdeki biyobirikimi değerlendirmek için özel olarak tasarlanmamış olsa da, maksimum maruz kalma senaryosu kullanarak pestisitlerin bitkiler tarafından alım ve yer değiştirme kabiliyetini değerlendirir veya endişe verici kalıntıları belirlemek için metabolik veya bozunma yollarını karakterize eder.

Toplanan veriler, kararlı hal koşullarının yaklaşık olarak hesaplanması koşuluyla, bitkideki madde konsantrasyonunun ilgili çevresel matrislerdeki konsantrasyona göre oranına dayalı bir biyobirikim ölçütü/ölçütlerinin hesaplanmasına izin verebilir. Testin yürütülmesi sırasında, maruz kalma yöntemi (yani püskürtme, tozlanma, biyolojik katılarla değiştirilmiş toprak, toprağa ekleme), maruz kalma yolu (yani yaprak ve/veya kök), maruz kalma miktarının belirlenmesi ve bitki büyüme matrislerinin özellikleri gerçekçi bir biyobirikim ölçütünün belirlenmesi için dikkatlice ele alınmalıdır.

Rehber, köklerin yanı sıra yapraklar yoluyla maruz kalmaya izin verir (ve sonuç olarak gaz halindeki ve uçucu maddelerin nasıl ele alınacağına dair tavsiyeler sağlar). Kimyasal analiz yöntemine dayanan tekrar sayısı ile üç test konsantrasyonu önerilir (radyoaktif analiz kullanılırsa daha azına ihtiyaç vardır). Test süresi ve seçilen bitkilerin sayısı belirtilmemiştir, ancak kimyasal analiz için yeterli biyokütle sağlamalıdır. Besin ürünleri ve ingiliz çimi de dahil olmak üzere çeşitli türler önerilmektedir.

İlke olarak, test maddesi konsantrasyonlarının çevresel matrislerde ölçülmesi durumunda, toplanan veriler biyobirikim ölçütünün/ölçütlerinin hesaplanmasına izin verebilir. Bu ölçütün gerçekçi olması için, maruz kalma yöntemi, yolu ve miktarı ile bitki büyüme matrislerinin özelliklerinin dikkatlice değerlendirilmesi gerekir.

İlgili veriler aynı zamanda rehber dışı çalışmalardan, saha çalışmalarından veya bitki toksisite çalışmalarından (örneğin doku konsantrasyonları ölçülüyorsa) ve bitkilerde ek kimyasal analizlerin gerçekleştirildiği karasal bitkiler ile yapılan rehber toksisite çalışmalarından da elde edilebilir (örn. OECD Test Rehber 208'e (OECD, 2006) göre).

Bitkiler için (Q)SAR modelleri

Bitkilerdeki madde birikimini tahmin etmek için muhtemelen birkaç model yararlıdır. Bu modellerin bir incelemesi yapılmıştır. Tüm modellerin doğrulanması, bitkilerdeki deneysel standartlaştırılmış verilerin bulunmaması nedeniyle engellenmektedir (Gobas ve ark., 2016).

Modellerin çoğu için gerekli olan tek girdi K_{ow} değeridir, ancak bazıları için ek basit fiziko-kimyasal özellikler (örn. moleküler ağırlık, buhar basıncı ve suda çözünürlük) gereklidir. Gobas ve ark. (2016) ve diğer çalışmalarda belirtildiği üzere, mevcut bitki modellerinin uygulanabilirlik alanı, kimya açısından geniş bir aralık (yani K_{ow} , pKa, MW aralığı) ve standartlaştırılmamış testler için yetersiz test verileri nedeniyle sınırlı olabilir.

Karasal besin zincirinde biyomagnifikasyon

İkincil zehirlenme değerlendirmesi için varsayılan karasal besin zinciri, toprak - solucan - solucan yiyen kuşlar / memeliler olarak tanımlanır (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Kısım R.16, Bölüm R.16.6.7.2).

Sucul besin zincirine benzer şekilde, karasal besin zincirinde, küçük kuşların ve memelilerin yırtıcı kuşlar ve sansargiller gibi karasal yırtıcı hayvanlar için av görevi gördüğü daha yüksek trofik seviyelerde birikim meydana gelebilir (Jongbloed ve ark., 1994, Armitage ve ark., 2007).

Bu, aşağıdaki şekilde tanımlanan varsayılan bir karasal besin zincirine yol açar:

toprak → solucan/bitki → solucan veya bitki yiyen kuşlar veya memeli → yırtıcı

Genellikle, bu tür bilgileri değerlendirmek için, karasal ortamdaki kuşlar ve memelilerde birikimi değerlendiren modelleme verileri mevcuttur. Ayrıca, memelilerde saha verileri ve/veya toksikokinetik veriler mevcut olabilir ve bunlar dikkate alınmalıdır. Saha verilerinin yorumlanması, modelleme verileri ve toksikokinetik veriler hakkında daha fazla bilgi aşağıda verilmiştir.

Karasal besin zinciri için nicel yapı aktivite ilişkileri

Karasal kuş ve memeli türlerinde ve besin ağlarında biyomagnifikasyonu tahmin etmek için birkaç model mevcuttur. Pasif taşınan nötr, iyonik olmayan maddeler için modeller geliştirilmiştir. Bu modeller maddenin K_{ow} ve K_{oa} değerine dayanmaktadır. Modellenen besin ağına bağlı olarak, $\log K_{ow} > \sim 2$ ile birlikte $\log K_{oa} > \sim 5-6$ ise, maddeler biyomagnifikasyon potansiyeline sahiptir. İyonlaşabilen maddeler ve hidrofobik dağılım ile birikmeyen maddeler için modeller bulunmamaktadır. Karasal besin ağının tüm seviyeleri için biyodönüşüm oranı ve beslenme asimilasyon verimlilikleri için tahmin yöntemleri geliştirilmesine de ihtiyaç vardır (Gobas ve ark., 2016).

Toksikokinetik veriler

Hava soluyan organizmalardaki toksikokinetik çalışmalar, özellikle $\log K_{ow} > 2$ ve $\log K_{oa} > 4.5$ değerlerine birlikte sahip olan maddeler için biyobirikim hakkında yararlı bilgiler sağlayabilir. Daha fazla bilgi için Bölüm [R.7.10.15](#) ve Bölüm [R.7.12](#) incelenmelidir.

R.7.10.11 Karasal biyobirikim üzerine mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

Karasal biyobirikim üzerine test verileri

Endüstriyel ve tüketici kimyasalları için nadiren talep edildiğinden, belirli toprak solucanı ve bitki biyobirikimi testlerinin değerlendirilmesi ile ilgili deneyim sınırlıdır. Jager ve ark. (2005) toprak solucanı biyoanalizleri hakkında bazı bilgiler sağlamıştır. Standart yöntemler kullanılarak elde edilen veriler tercih edilir. Özellikle rehber dışı çalışmaların dikkatle değerlendirilmesi gerekir. Genel olarak dikkate alınması gereken faktörler şunları içerir:

- Mümkün olduğunda, maruz kalma süresi, özellikle yüksek oranda hidrofobik maddeler için (örneğin, $\log K_{ow} > 6$), kararlı hale ulaşmasını sağlamak üzere yeterli olmalıdır. Bununla birlikte, çoğu kök ürünleri ve çoğu hidrofobik bileşik için, kararlı hale ulaşmak büyüme süresinden çok daha uzun sürebilir. Bu gibi durumlarda, ekinler tüm büyüme mevsimi boyunca izlenmelidir.
- Test konsantrasyonu ekolojik olarak ilgili olmalı ve organizma üzerinde önemli toksik etkilere neden olmamalıdır, aynı zamanda miktar belirleme sınırlarının üzerinde olması gerekir.

- Bitkiler için dokulardan numune alma, ilgili madde (kökte, yapraklarda vb. beklenen dağılımı açısından) ve maruz kalma değerlendirmesinin gerekliliği (örn. sebzeler soyulmuş değil, bütün olarak düşünülmelidir, vb.) ile ilgili olmalıdır.
- Bitki kökü ilgilenilen doku ise, dikkate alınması gereken birkaç faktör vardır. Kap boyutları kök gelişimini kısıtlamamalıdır. Test türü, lipid açısından zengin yüzey katmanına sahip ilgili bir besin ürünü olmalıdır. Yüzey alanı-hacim oranı önemli olabilir (yani, kök hacmine göre yüzey alanı büyük mü?) Hızlı büyüyen minyatür çeşitlerin kullanımı yanlılığa yol açabilir, çünkü kabuktan kökün çekirdeğine aktarım yavaş bir süreç olma eğilimindedir (Trapp, 2002).
- Bazen bitkiler, basitleştirilmiş alım ve eliminasyon aşaması lojistiğine izin vermek için hidroponik olarak yetiştirilir. Bununla birlikte, bu çevresel olarak ilgili bir maruz kalma şekli değildir ve bir maddenin biyobirikim kapasitesi, doğal olarak büyümüş substrata kıyasla önemli ölçüde değişebilir (Hoke ve ark., 2015; Karnjanapiboonwong ve ark., 2011).
- Organik karbon içeriğine ilave olarak, pH ve toprak dokusu bitkilerde biyobirikimde değişkenliğe neden olduğu gösterilen ek parametrelerdir. Bu nedenle, test toprağının türü ve sayısı seçilirken bunlar dikkate alınmalıdır (Hoke ve ark., 2015).
- Biyobirikim ayrıca bitki türlerine (örn. Huelster ve ark., 1994) ve bitki çeşitlerine (Inui ve ark., 2008) göre değişir.
- Analizden önce organizmanın temizlendiğinden ve (solucanlar için) bağırsak içeriğinin boşaltıldığından emin olmak önemlidir (çünkü küçük miktarlarda tutulan kirli toprak yanlış sonuçlar verebilir). OECD Test Rehberi 317'de belirtildiği gibi temiz toprakla bir eliminasyon aşamasının dahil edilmesi, bağırsak içeriğinin organizmanın konsantrasyonu üzerindeki etkisini değerlendirmeye yardımcı olacaktır.
- Analitik yöntemler, hem toprak hem de organizma dokusundaki maddeyi tespit edecek kadar hassas olmalıdır ve radyoaktif işaretli maddeler gerektirebilir. Radyoaktif analizin kendi başına organizma içindeki sağlam madde miktarı hakkında bilgi vermediği ve tercihen metabolitlerin katkısının değerlendirilebilmesi için ana bileşik analizi ile desteklenmesi gerektiği unutulmamalıdır.
- Tüm toprak testleri, soğurma davranışını da yansıttığı için biyobirikim potansiyeli potansiyelinin göstergesi olarak çok bilgilendirici olmayan bir BSAF sağlama eğilimindedir. Daha iyi bir gösterge, kolay çözünen (biyoyararlanımlı) toprak gözenek suyu konsantrasyonuna dayalı BCF olacaktır. İdeal olarak, bu, doğrudan analitik ölçüm kullanılarak yapılmalıdır (SPME lifleri gibi numune alma cihazlarını içerebilir (örn. Van der Wal ve ark., 2004)). Analitik veri mevcut değilse, gözenek suyu konsantrasyonu uygun dağılım katsayıları kullanılarak tahmin edilebilir, ancak bunun sonuca ek belirsizlik getirebileceği unutulmamalıdır.
- Maruz kalma değerlendirmesinde standart bir şekilde kullanılmak üzere verilerin dönüştürülmesi gerekebilir. Örneğin:

- Mümkün olduğunda, birikim verileri organizmanın varsayılan lipid içeriğine göre normalize edilmelidir. Lipidin dağılım davranışında önemli bir rol oynaması beklenmiyorsa, bu normalizasyon uygun olmayabilir. Mümkünse, farklı bir normalizasyon türü düşünülebilir (örn. kuru ağırlık veya protein içeriği).
- Toprak tipi vb. ile birikimdeki değişkenliğe ilişkin veriler mevcutsa, bu açıklanmalıdır. Test toprağının organik karbon içeriği, PEC üretmek için kullanılan varsayılan topraktan farklıysa (örneğin, toprak atık su çamuru ile değiştirilmişse), veriler (geçerliyse) varsayılan organik madde/karbon içeriğine normalize edilmelidir. Bu, nötr organik bileşikler için geçerlidir; metaller ve iyonik veya polar organik maddeler için, organik karbon dışındaki toprak parametreleri daha önemli olabilir ve öncelikle normalizasyonun geçerliliği araştırılmalıdır.

Solucanlar söz konusu olduğunda, solucanda bulunan toplam madde miktarı (yani doku artı bağırsak içeriği) ikincil zehirlenme için hala ilgili bir parametredir çünkü bir yırtıcı tüm solucanı tüketecektir. Bağırsak içeriğine emilen maddenin oranı, bağırsak içeriğinin sabit ağırlık yüzdesi varsayılarak tahmin edilebilir. Bağırsak içeriğinin oranı varsayılan olarak 0.1 kg kuru ağırlık toprak/kg yaş ağırlık solucan olarak düzenlenmiştir (Jager ve ark., 2003; Jager, 2004).

Ocak 2013'te ILSI/HESI karasal biyobirikim çalışmayı düzenlenmiştir ve Hoke ve ark. (2016), organik maddelerin karasal biyobirikim değerlendirmesi için laboratuvar tabanlı yaklaşımların uygulanmasının bir incelemesini sunmuştur.

Biyobirikim değerlendirmesi amacıyla toksikokinetik verilerin değerlendirilmesi, Bölüm [R.7.10.15](#) ve Bölüm [R.7.12](#)'de daha ayrıntılı açıklanmaktadır.

Karasal biyobirikim üzerine test dışı veriler

Nicel yapı aktivite ilişkilerinin kullanımı, esas olarak, uygulanabilirlik alanları da dahil olmak üzere önerilen modellerin bir değerlendirmesini sağlayan maruz kalma araçları hakkındaki raporda açıklandığı gibi, kimyasal güvenlik değerlendirmesi için rehber tarafından belirlenecektir. Bir madde uygulanabilirlik alanının dışındaysa, sonuçlar değerlendirmede dikkatle kullanılmalıdır. Herhangi bir modelin kullanımı, duruma göre gerekçelendirilmelidir.

2013 ILSI/HESI karasal biyobirikim çalışmayı, Gobas ve ark. (2016) tarafından bir yayınlara sonuçlanmıştır, mevcut karasal biyobirikim modellerinin ve bunların yararları ve sınırlamalarının bir incelemesini sunar. Bu derlemede, karasal besin zincirlerinde birikim modelleri, karasal omurgasızlar ve bitkiler için yukarıda belirtilen modellerin yanında sunulmuştur. Karasal besin zinciri boyunca birikimi değerlendiren modellerin de esas olarak nötr, noniyonik organik maddelerle sınırlı olduğu unutulmamalıdır. K_{ow} değerine ek olarak, hava soluyan organizmalarda karasal biyobirikim için bir diğer önemli fiziko-kimyasal özellik, oktanol-hava dağılım katsayısıdır (K_{oa}).

Çapraz okuma ve kategorilere ilişkin genel rehberlik, sucul birikim raporunda verilmiştir (bkz. Bölüm [R.7.10.3.2](#)).

R.7.10.11.1 Saha verileri

Saha çalışmalarından elde edilen verilerin değerlendirilmesi için genel rehberlik sucul birikim raporunda verilmiştir (bkz. Bölüm [R.7.10.3.3](#)). Kimyasal güvenlik değerlendirmesi için maruz kalma senaryosu, atık su çamurunun 10 yıllık bir süre boyunca karaya yayılmasını dikkate alır ve sonuç olarak toprağın maruz kalma geçmişi açıklanmalıdır. Bölüm [R.7.10.4.3](#)'te açıklanan faktörlerden bazıları da ilgilidir.

Daha önce belirtildiği gibi, 2013 yılında ILSI/HESI karasal bir biyobirikim çalıştayına sponsor olmuştur ve van den Brink (2016) tarafından yayınlanan bir yayın, karasal organizmalardaki maddelerin potansiyel biyobirikimini incelemek için saha çalışmalarının kullanımını tartışmaktadır. Bu derlemede sucul biyobirikim ile bir karşılaştırma yapılmıştır. Saha verilerinden deneysel olarak türetilmiş sonlanma noktalarının türetilmesi ve kullanılmasıyla ilgili olarak sucul ortam ile farklar ve karasal ortam için özel dikkat noktaları vurgulanmıştır.

R.7.10.11.2 Karasal biyobirikim için maruz kalma hususları

İkincil zehirlenme veya çevre yoluyla insan maruz kalmasının değerlendirilmesi, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin bir parçasıdır. Tetikleyici koşullar, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.16'da verilmektedir.

R.7.10.12 Karasal biyobirikim için sonuçlar

Bir maddenin karasal türlerde biyobirikim potansiyelini açıklamak için aşağıdaki belirtilen şekilde tercih edilen veri kaynaklarının bir hiyerarşisi bulunur:

- Genel olarak, karasal bitkilerde veya solucanlarda maddenin kendisi hakkında güvenilir ölçülmüş BCF verileri, biyobirikimle ilgili farklı veri türleri arasında en büyük ağırlığa sahip olarak kabul edilir. Yüksek düzeyde lipofilik maddelerle ilgili deneysel verilerin (örneğin, 6'nın üzerinde log K_{ow} ile) daha az lipofilik maddeler için belirlenen BCF değerlerinden çok daha yüksek bir belirsizlik seviyesine sahip olacağı unutulmamalıdır. BSAF, alternatif bir önlem olabilir.
- Ardından, tercih sırasına göre, toprak solucanı verileri için vekil olarak çökelti solucanından (*Lumbriculus variegatus*) güvenilir ölçülmüş BCF verileri gelir. Prensipite farklılıkların büyük olması beklenmese de, karşılaştırmalı bilgi eksiktir. Bu nedenle, bir çökelti organizmasından karasal bir organizmaya BCF verilerinin çapraz okuması, çökelti ve toprak arasındaki organik karbon ve gözenek suyu içeriğindeki herhangi bir fark dikkate alınarak, duruma göre yapılmalıdır.
- Saha verileri bu *aşamada* bir *Kanıt Ağırlığı* savunmasının bir parçası olarak da faydalı olabilir (bunlar dikkatli bir değerlendirme gerektirir ve maddelerin çoğu için mevcut olmayacaktır). Karasal bitkilerde ve omurgasızlarda birikime ilişkin saha verilerinin yanı sıra, karasal besin zincirlerindeki biyomagnifikasyon verileri de dikkate alınmalıdır.
- Toksikokinetik veriler, biyobirikim değerlendirmesinde de duruma göre kullanılabilir ve hava soluyan organizmalarda birikimin su soluyan organizmalardakinden daha belirgin olması muhtemel olduğunda değerlendirmede ele alınmalıdır. Bölüm [R.7.10.15](#) içerisinde diğer ayrıntılar incelenebilir.

- Bir sonraki kanıt hattı, test dışı yöntemlerden elde edilen verilerle ilgilidir.
- Diğer kanıtlar, fizikokimyasal özelliklere dayanan göstergeler ve kurallarla ilgilidir. Bununla birlikte, log K_{ow} birçok madde için yararlı bir tarama aracıdır ve genellikle log K_{ow} 3'ün (4, GHS) altında bir log K_{ow} değerine sahip iyonlaşmamış organik maddelerin sucul ortamı için önemli ölçüde biyobirikim göstermediği varsayılır. Karasal ortam için bu tür tetikleyiciler verilemez. İlave olarak, log K_{oa} > 5 değerleri, karasal besin zincirinde biyomagnifikasyonun meydana gelip gelmeyeceğini değerlendirmek için yararlı bir tetikleyicidir.

Prensip olarak, bir maddenin biyobirikimi ile ilgili yasal amaca uygun bir sonuca ulaşmak için, test ve test dışı yaklaşımlardan elde edilen mevcut bilgiler, fiziko-kimyasal özellikler gibi diğer göstergelerle birlikte bütünleştirilmelidir. Raporda sucul birikim için bir şema sunulmuştur ve genel ilkeler karasal türler için aynıdır. Özetle:

- Maddenin yapısı ve fiziko-kimyasal özellikleri ile çevredeki bozunma ürünleri hakkındaki bilgilere dayanarak biyobirikim potansiyelinin ön analizi yapılır. Bu aşamada, maddenin önemli ölçüde biyobirikim olasılığının düşük olduğuna karar vermek mümkün olabilir.
- Varsa saha verileri de dahil olmak üzere mevcut tüm *in vivo* veriler değerlendirilir.
- İlgili ise, bir grup yaklaşımının parçası olarak olası analoglar belirlenir.
- Test dışı veriler değerlendirilir (örn. QSAR, K_{ow} ve K_{ow} tabanlı modellerin ilgili olup olmadığı ve çapraz okuma vb. dahil).
- Farklı kanıt türleri tartılır ve karasal biyobirikim hakkında bir sonuca varmanın mümkün olup olmadığı incelenir. BAF ve/veya BMF hakkında bir sonuca varmadaki zorluklar, daha fazla test yapılması gerektiğini gösterebilir. Farklı veri kaynakları bir maddenin biyobirikim potansiyelinin tutarlı bir resmini sağlamıyorsa, bu tutarsızlığın nedenleri ele alınmalıdır.

Bir maddenin ölçülen balık BCF değeri, QSAR tarafından tahmin edilenden önemli ölçüde düşükse, toprak solucanı BCF değerinin de tahmin edilen balık değerinden daha düşük olacağı sonucuna varılamayacağı unutulmamalıdır. Bunun nedeni, özellikle balıklarda biyodönüşüm süreçlerinin toprak solucanlarından daha kapsamlı olmasıdır (az sayıda bileşik, toprak solucanları tarafından önemli ölçüde biyodönüşüme uğrar).

R.7.10.12.1 Sınıflandırma ve Etiketleme uygunluğuna ilişkin sonuç

Toprak solucanlarında ve bitkilerde birikime ilişkin veriler, sınıflandırma ve etiketleme için kullanılmamaktadır.

R.7.10.12.2 PBT/vPvB değerlendirmesi uygunluğuna ilişkin sonuç

PBT/vPvB değerlendirmesi için bilgilerin uygunluğuna karar vermek amacıyla, [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.11 içerisindeki rehberlik incelenebilir.

R.7.10.12.3 Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım uygunluğuna ilişkin sonuç

Genel olarak, ikincil zehirlenme ve beslenme yoluyla insan maruz kalmasının ilk değerlendirmesi için tahmini BSAF (veya gözenek suyu BCF) ve BMF değerleri (QSAR veya çapraz okumadan) kullanılabilir. Tahmin mümkün değilse, ölçülen BSAF (örneğin OECD Test Rehberi 317) verileri 1000 ton/yıl seviyesinde gerekli olacaktır.

R.7.10.13 Karasal biyobirikim için bütünleşik test stratejisi (BTS)

R.7.10.13.1 Amaç / Genel ilkeler

Test stratejisinin amacı, karasal biyobirikim hakkında en verimli şekilde bilgi sağlamak ve böylece maliyetleri en aza indirmektir. Genel olarak, kimyasal güvenlik değerlendirmesi daha fazla karasal biyobirikim bilgisine duyulan ihtiyacı belirlerse, test verilerine yalnızca 1000 ton/yıl seviyesinde ihtiyaç duyulacaktır. Ayrıca, KGD gerçekleştiren bir kayıt ettirenin PBT/vPvB değerlendirmesinde sucül birikim verilerine dayalı olarak (i) ("Madde PBT ve vPvB kriterlerini karşılamamaktadır") veya (ii) ("Madde, PBT veya vPvB kriterlerini karşılamaktadır") şeklinde kesin bir sonuca varamadığı tüm durumlarda ve PBT/vPvB değerlendirmesi bu iki sonuçtan birini elde etmek için karasal biyobirikim hakkında ek bilgi gerekeceğini gösterdiğinde, PBT/vPvB için ek karasal biyobirikim verilerinin toplanması ve/veya oluşturulması gerekir. Bu yükümlülük ≥ 10 ton/yıl miktarındaki tüm kayıtlar için geçerlidir (daha fazla ayrıntı için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.11).

R.7.10.13.2 Ön hususlar

Tahmin edilen BSAF ve BMF değerleri, yaban hayat veya insanlar için potansiyel riskler gösteriyorsa, daha fazla karasal biyobirikim testine duyulan ihtiyaç, PEC değerini daha iyi verilerle iyileştirmek için genel bir stratejinin parçası olarak değerlendirilmelidir:

- daha gerçekçi salım bilgileri (risk yönetimi hususları dahil);
- daha güvenilir toprak dağılım katsayılarının belirlenmesi (toprak gözenek suyu konsantrasyonunun daha iyi tahmin edilmesine izin verebilir) veya bozunma yarı ömrü gibi davranışla ilgili diğer parametreler.

Bu verilere, diğer ortamlar için riskleri netleştirmek üzere de ihtiyaç duyulabilir ve bir hassasiyet analizi, ilk olarak toplanacak en uygun verilerin belirlenmesine yardımcı olabilir.

İlave olarak, daha fazla çökelti organizması biyobirikimi veya toprak organizması toksisite testleri gerekirse, bu çalışmalardan ilgili verileri toplamak mümkün olabilir.

Risk oranının büyüklüğüne ve etkilere ilişkin verilerdeki belirsizliğe bağlı olarak, bazı durumlarda laboratuvar memelileri veya kuşlar ile yapılan uzun süreli bir besleme çalışmasından daha gerçekçi bir NOAEL değeri elde etmek uygun olabilir, ancak bu genellikle tercih edilen seçenek değildir.

R.7.10.13.3 Karasal biyobirikim için test stratejisi

Genel olarak, oktanol-hava dağılım katsayısı (K_{oa}) ve oktanol-su dağılım katsayısı (K_{ow}), nötr organik maddelerin çoğu için tarama seviyesinde karasal biyobirikim modelleri için ilk girdi olarak kullanılabilir.

Madde modellerin alanının dışındaysa ve diğer yöntemlerle (analog çapraz okuma veya saha verilerinden türetilmiş gibi) BSAF ve BMF oluşturulamıyorsa, 1000 ton/yıl seviyesinde bir test gerekebilir. Benzer şekilde, diğer bilgilerle düzeltilemeyen bir risk tespit edilirse, genellikle test gerekli olacaktır.

Standart test rehber çalışmaları tercih edilir. Test seçimi, riske yol açan senaryoya bağlı olacaktır ve test türü, incelenen münferit maddenin özelliklerinden beklenebilecek özel alım yolunu yansıtmalıdır. Örneğin, bir model en yüksek konsantrasyonun köklerde olacağını öngördüğünde, test türü ilgili bir besin ürünü olacaktır.

Saha izleme, özel durumlarda, özellikle kararlı hale ulaşması uzun zaman alabilen daha hidrofobik maddeler için laboratuvar testlerine alternatif veya tamamlayıcı bir eylem şekli olabilir. Yeterli maruz kalma geçmişine sahip olabilecek toprakları bulmanın zorluğundan dolayı bu rutin bir değerlendirme olmayacaktır.

R.7.10.14 Karasal biyobirikim için referanslar

ASTM, (2004) E1676-04. Lumbricid Toprak Solucanı *Eisenia fetida* ve Enchytraeid Solucanı *Enchytraeus albidus* ile Laboratuvar Toprak Toksikitesi veya Biyobirikim Testlerinin Yürütülmesi için Standart Rehber. ASTM International, West Conshohocken, PA, Amerika Birleşik Devletleri.

Çevre Ajansı (2006) Toprakta kimyasalların bitki alımını tahmin etmek için modellerin değerlendirilmesi. Bilimsel Rapor – SC050021/SR. Çevre Ajansı, Bristol, İngiltere.

Gobas FAPC, Burkhard LP, Doucette WJ, Sappington KG, Verbruggen EMJ, Hope BK, Bonnell MA, Arnot JA ve Tarazona JV (2016) Review of existing terrestrial bioaccumulation models and terrestrial bioaccumulation modelling needs for organic chemicals (Organik kimyasallar için mevcut karasal biyobirikim modellerinin ve karasal biyobirikim modelleme ihtiyaçlarının gözden geçirilmesi). IEAM 12:123-34.

Hoke R, Huggett D, Brasfield S, Brown B, Embry M, Fairbrother A, Kivi M, Leon-Paumen M, Rosser R, Salvito D, Scroggins R (2016) Review of laboratory-based terrestrial bioaccumulation assessment approaches for organic chemicals: Current status and future possibilities (Organik kimyasallar için laboratuvar tabanlı karasal biyobirikim değerlendirmesi yaklaşımlarının incelemesi: Mevcut durum ve gelecekteki olasılıklar). IEAM 12:109-22.

Huelster A, Muller JF ve Marschner H (1994) Soil-plant transfer of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans to vegetables of the cucumber family (Cucurbitaceae) (Poliklorlu dibenzo-p-dioksinlerin ve dibenzofuranların salatalık ailesinin (Cucurbitaceae) sebzelerine toprak-bitki aktarımı). *Environ Sci Technol* 28:1110-5.

Inui H, Wakai T, Gion K, Kim Y ve Eun H (2008) Differential uptake for dioxin-like compounds by zucchini species (Kabak türleri tarafından dioksin benzeri bileşikler için diferansiyel alım). *Chemosphere*: 73:1602-7.

Jager T (1998) Mechanistic approach for estimating bioconcentration of organic chemicals in earthworms (Oligochaeta) (Toprak solucanlarında (Oligochaeta) organik kimyasalların biyokonsantrasyonunu tahmin etmek için mekanik yaklaşım). *Environ Toxicol Chem* 17:2080-90.

Jager T, Fleuren RHLJ, Roelofs W ve de Groot A (2003) Feeding activity of the earthworm *Eisenia andrei* in artificial soil (*Eisenia andrei* toprak solucanının yapay toprakta beslenme aktivitesi). *Soil Biol Biochem* 35:313-22.

Jager T (2004) Modeling ingestion as an exposure route for organic chemicals in earthworms (Oligochaeta) (Toprak solucanlarında (Oligochaeta) organik kimyasallar için bir maruz kalma yolu olarak sindirimi modelleme). *Ecotoxicol Environ Saf* 57:30-8.

Jager T, Van der Wal L, Fleuren RHLJ, Barendregt A ve Hermens JLM (2005) Bioaccumulation of organic chemicals in contaminated soils: evaluation of bioassays with earthworms (Kirlenmiş topraklarda organik kimyasalların biyobirikimi: toprak solucanları ile biyoanalizlerin değerlendirilmesi). *Environ Sci Technol* 38:293-8.

Karnjanapiboonwong A, Chase DA, Canas JE, Jackson WA, Maul JD, Morse AN, Anderson TA (2011) Uptake of 17 alpha-ethynylestradiol and triclosan in pinto bean, *Phaseolus vulgaris* (Pinto fasulye, *Phaseolus vulgaris* içerisinde 17 alfa-etinilestradiol ve triklosan alımı). *Ecotoxicol Environ Saf* 74:1336-42.

Katagi K ve Ose K (2015) Toxicity, bioaccumulation and metabolism of pesticides in the earthworm (Toprak solucanındaki pestisitlerin toksisitesi, biyobirikimi ve metabolizması). *J Pest Sci* 40:69-81.

Kelly BC ve Gobas FAPC (2003) An Arctic terrestrial food-chain bioaccumulation model for persistent organic pollutants (Kalıcı organik kirleticiler için bir Arktik karasal besin zinciri biyobirikim modeli). *Environ Sci Technol* 37:2966-74.

OECD (2006) Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi Test Rehberi 208, Karasal Bitki Testi: Fide Çıkışı ve Fide Büyüme Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

OECD (2010) Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi, Test Rehberi 317, Karasal Solucangillerde (Oligochaetes) Biyobirikim. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü, Paris, Fransa.

Samsøe-Peterson L, Rasmussen D ve Trapp S (2003) Modelling af optagelse af organiske stoffer I grøntsager og frugt. Miljøprojekt Nr. 7652003, Danimarka Çevre Koruma Ajansına Rapor, Danimarka.

Smit CE, van Wezel AP, Jager T ve Traas TP (2000) Secondary poisoning of cadmium, copper and mercury: implications for the Maximum Permissible Concentrations and Negligible Concentrations in water, sediment and soil (Kadmiyum, bakır ve cıvanın ikincil zehirlenmesi: Su, çökelti ve topraktaki Maksimum İzin Verilebilir Konsantrasyonlar ve İhmal Edilebilir Konsantrasyonlar için çıkarımlar). RIVM Rapor 601501009, Bilthoven, Hollanda (www.rivm.nl).

Trapp S ve Matthies M (1995) Generic one-compartment model for uptake of organic chemicals by foliar vegetation (Yapraklı bitki örtüsü tarafından organik kimyasalların alımı için genel tek ortamlı model). Environ Sci Technol 29:2333-8.

Trapp S (2002) Dynamic root uptake model for neutral lipophilic organics (Nötr lipofilik organikler için dinamik kök alım modeli). Environ Toxicol Chem 21:203-6.

Travis CC ve Arms AD (1988) Bioconcentration of organics in beef, milk, and vegetation (Sığır eti, süt ve bitki örtüsündeki organik maddelerin biyokonsantrasyonu). Environ Sci Technol 22:271-4.

UBA (2002) UBA-Texte 07/02: Standardisierung und Validierung eines Bioakkumulationstests mit terrestrischen Oligochaeten. Anhang Richtlinienentwurf "Biyobirikim: Karasal solucangiller kullanılarak toprak testi". Umweltbundesamt Berlin, Almanya

UBA (2003) UBA-Texte 66-03: Topraktaki kirleticilerin biyoyararlanımının değerlendirilmesi: son zamanlardaki kavramlar üzerine bir inceleme. Araştırma Raporu 201 64214. Umweltbundesamt Berlin, Almanya

ABD-EPA (2012) Ekolojik Etkiler Test Rehberleri. OCSPP 850.4800 Bitki Alım ve Yer Değiştirme Testi. ABD Çevre Koruma Ajansı Önleme, Pestisitler ve Toksik Maddeler Ofisi.

Van den Brink NW, Arblaster JA, Bowman SR, Condre JM, Elliot JE, Johnson MS, Muir DCG, Natal-da-Luz T, Rattner BA, Sample BE ve Shore RF (2016) Use of terrestrial field studies in the derivation of bioaccumulation potential of chemicals (Karasal saha çalışmalarının kimyasalların biyobirikim potansiyelinin türetilmesinde kullanılması). IEAM 12:135-45.

Van der Wal L, Jager T, Fleuren RHLJ, Barendregt A, Sinnige TL, Van Gestel CAM ve Hermens JLM (2004) Solid-phase microextraction to predict bioavailability and accumulation of organic micropollutants in terrestrial organisms after exposure to a field-contaminated soil (Sahada kirlenmiş toprağın maruz kalmadan sonra karasal organizmalarda organik mikro kirleticilerin biyoyararlanım ve birikimini tahmin etmek için katı faz mikro özütleme). Environ Sci Technol 38:4842-8.

R.7.10.15 Biyobirikim değerlendirilmesinde memeli toksikokinetik verileri

Memeli toksikokinetik çalışmaları, biyobirikim değerlendirmesi için *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında faydalı bilgiler sağlayabilir.

Dikkate alınacak ölçütler aşağıda belirtilenleri içerir:

- metabolik kapasite/hız sabitleri
- dağılım hacmini (V_D) içerebilen, lipid veya kandan zengin dokulara afinite (oral dozlamadan sonra bir maddenin vücuttaki dağılımını tayin eden bir parametre; gözlenen bir kan konsantrasyonu oluşturmak için bir maddenin homojen olarak dağılması gereken hacim olarak tanımlanır). Lipidlere önemli bir dağılım varsa, V_D artacaktır (ancak bu böbrek ve karaciğer yetmezliğinden de kaynaklanıyor olabilir).
- dokularda kararlı hal (plato) konsantrasyonuna ulaşmak için geçen süre ve
- alım verimliliği ve temizlenme ve eliminasyon hızları/yarı ömürleri.

Standartlaştırılmış test yöntemleri (örneğin, OECD Test Rehberi 417 Toksikokinetik) toksikokinetik verilerin türetilmesi için yaygın olarak kullanılmamaktadır ve bu nedenle, bu tür verilerin değerlendirilmesinde değişkenlik kaynaklarına ve bunların sonuçlar üzerindeki etkisine özel dikkat gösterilmesi gerekmektedir.

Fizyolojik tabanlı farmakokinetik/toksikokinetik modeller (PBPK/PBTK), bir maddenin toksikokinetik davranışının anlaşılmasını destekleyebilir veya genişletebilir ve madde için geçerli bir modelin mevcut olduğu durumlarda bunların kullanımı dikkate alınmalıdır. Daha fazla bilgi için, risk değerlendirmesinde PBPK modellerine ilişkin IPCS/DSÖ proje belgesi incelenebilir (2010).

OECD Test Rehberi 417 Toksikokinetik içerisinde sunulan ilkeler, mümkün olduğu kadar ilgili yerlerde uygulanmalıdır. Eliminasyon bilgilerini kullanırken asgari olarak aşağıdaki hususlar ele alınmalıdır:

- Test deneğinin türü, yaşı ve cinsiyeti. Eliminasyon hızları/yarı ömürler yaş ve cinsiyete göre değişiklik gösterebilmekte ve aynı türdeki alt gruplar için yarı ömür değerlerinin belirlenmesi ihtiyacına neden olmaktadır (Ng ve Hungerbuhler, 2014).
- Numune tipi. Eliminasyon verilerini elde etmeye yönelik geleneksel uygulama, serum, plazma veya tam kanda bir maddenin konsantrasyonunu ölçmektir. İlave olarak, idrar, dışkı, çeşitli doku ve organa özel veriler ve bu tür numunelerin birlikteliği sıklıkla mevcuttur.
- Çalışma yaklaşımı. Testler genellikle deneysel (örn. laboratuvar hayvanı testleri) veya gözlemsel (örn. insan biyo-izleme) yaklaşımlar kullanılarak gerçekleştirilir.
- Maruz kalma hususları ve dozlama düzeni. Maruz kalma yolları, seviyesi, süresi (kısa süreli/uzun süreli) ve dozlama düzeni (tek, aralıklı veya sürekli), bir çalışmanın genel senaryosunu tanımlamak için ele alınmalıdır. Süregelen maruz kalma (kasıtlı veya kasıtsız) ve tekli veya tekrarlı dozlar kullanılarak yürütülen çalışmalardan elde edilen sonuçların tümü raporlanmalı ve farklı bir şekilde yorumlanmalıdır.

Yalnızca çok sınırlı ve/veya belirsiz maruz kalma bilgileri bulunan veya bulunmayan durumda gerçekleştirilen biyo-izleme çalışmaları, olası maruz kalma seviyelerinin, yollarının, süresinin/sıklığının tahmin edilmesini gerektirebilir ve yüksek belirsizlik nedeniyle biyobirikim değerlendirmelerinde tek bir karar unsuru olarak özellikle yararlı olmayabilir. Eliminasyon yarı ömrünün hesaplanması için ön koşul, eliminasyon modelinin birinci dereceden kinetiğe uyduğunun veya en azından birinci dereceden kinetikten (sözde birinci dereceden kinetik) önemli ölçüde sapmadığının gösterilmesidir. Maruz kalmanın dışlanamadığı bir çalışmadan bir eliminasyon hızının elde edilmesi durumunda, eliminasyon yarı ömürlerinin sunumu, sürekli maruz kalmanın sonuçlara etkisinin açıklaması ve eliminasyonun neden (yaklaşık olarak) birinci dereceden kinetiği izlediğinin varsayılabileceğinin gerekçesiyle birleştirilmelidir.

- Eliminasyon yarı ömrünün tanımlayıcıları. Mevcut çalışmalarda kullanılan terminoloji maalesef tam olarak standartlaştırılmamıştır. Uygulanan toksikokinetik modeller ve terminoloji (örneğin, belirli bir çalışmada "yarı ömür", "görünür yarı ömür" veya "içsel yarı ömür" ile ne kastedildiğinin açıklaması) ayrıntılı olarak raporlanmalıdır. Terminolojinin uygun kullanımı için Nordberg, Duffus ve Templeton (2004) çalışması incelenebilir.
- İlgili maddenin belirlenmesi ve miktar tayini için analitik yöntemler (ilgili olduğunda numune alma ve özütleme yöntemleri dahil). İzotopik işaretler (örn. radyokarbon C-14) aracılığıyla doğrudan algılama mı yoksa dolaylı algılamanın mı kullanıldığı belirtilir. Veri analizi için uygulanan istatistiksel yöntemler bildirilir. Eliminasyon yarı ömürleri genellikle aritmetik veya geometrik ortalamalar, medyan veya aralıklar halinde sunulur. Aralıklar dahil tüm bildirilen değerler sunulmalıdır.

Son olarak, memeli toksikokinetik bilgileri, biyobirikim değerlendirmesinde kullanımlarındaki mevcut sınırlı deneyim, bu Rehberde daha fazla özel durumu henüz gerektirmediğinden, durum bazında değerlendirilmelidir. Ayrıca Toksikokinetik veriler hakkında Bölüm [R.7.12](#) incelenmelidir.

R.7.10.16 Kuş Toksisitesi

(Uzun süreli) kuş toksisitesiyle ilgili bilgiler, yalnızca 1000 ton/yıl veya üzeri miktarda tedarik edilen maddeler için dikkate alınmalıdır (KKDİK Ek 10 Bölüm 9.6.1). Veriler, balık ve toprak solucanı besin zincirleri⁵ yoluyla bir maddeye kronik olarak maruz kalmanın ardından yırtıcı hayvanlar için ikincil zehirlenme risklerini değerlendirmek için kullanılır. Memeli toksisitesinin insan sağlığının korunması için ayrıntılı olarak ele alındığı düşünülürken, kuşlar için ek verilere olan ihtiyaç çok dikkatli bir şekilde düşünülmelidir - yeni testler, veri toplama sürecinde son çaredir. Bununla birlikte kuşlar, fizyolojilerinin belirli yönlerinde (örn. cinsel farklılaşmanın kontrolü, yumurtlama, vb.) memelilerden temelde farklıdır ve bu nedenle, memeli toksisite verileri kuşlar için sınırlı tahmin değerine sahiptir. Bu belge, halihazırda var olan bilgilerin nasıl değerlendirileceğini ve kuşlarda yeni testleri tetikleyebilecek hususları açıklamaktadır.

Endüstriyel ve tüketici kimyasalları için belirgin derecede ilgili veri eksikliği olduğu ve aşağıdakiler için daha fazla araştırmanın yapılabileceği vurgulanmalıdır:

- Kronik maruz kalmadan sonra kuşlar ve memeliler için bağıl hassasiyet oluşturmak,
- yapısal olarak ilgili maddeler arasında çapraz okuma savunmalarının geçerliliğini oluşturmak,
- kuşlar için *in vitro* yaklaşımları araştırmak ve
- kronik kuş toksisitesi için yapısal uyarıları tanımlamak.

Bu nedenle, daha fazla deneyim kazandıkça rehber gözden geçirilmelidir.

Okuyucular ayrıca daha fazla ilgili bilgi için memeli toksikokinetiği (bkz. Bölüm [R.7.12](#)), tekrarlı doz toksisitesi (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Kısım R.7a. Bölüm R.7.5) ve üreme sistemi toksisitesi (bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Kısım R.7a Bölüm R.7.6) sonlanma noktaları ile ilgili rehberde de başvurmalıdır.

R.7.10.16.1 Kuş toksisitesi tanımı

Bir kuş toksisitesi testinin amacı, tanımlanmış bir maruz kalma rejiminden kaynaklanan etkilerin doğası, büyüklüğü, sıklığı ve zamansal modeli hakkında veri sağlamaktır (Hart ve ark., 2001). Üç standart kuş testi tipik olarak şunları ölçer:

- kısa süreli oral maruz kalmaların öldürücü ve gecikmiş etkileri (dakikalar ile saatler süren, yemek yeme davranışını temsil eden, beslenmedeki günlük pikler (örn. gün doğumu ve akşam karanlığı) ve çok hızlı temizlenen veya dağılan ürünler);
- beslenme yoluyla orta süreli maruz kalmaların öldürücü etkileri (saatler ile günler süren, birkaç gün içinde nispeten yüksek maruz kalmalara sahip senaryoları temsil eden); veya

⁵ Dış ortam hava konsantrasyonlarının insan sağlığını (ve varsayım gereği diğer omurgalıları) korumak için belirlenecek sınırları aşması olası olmadığından, kuşlarla soluma testleri endüstriyel ve tüketici kimyasalları için gerekli görülmemektedir. Deri toksisitesi testlerinin benzer nedenlerle dikkate alınmasına gerek yoktur.

- beslenme yoluyla uzun süreli maruz kalmaların kronik öldürücü ve üreme sistemi etkileri (20 haftaya kadar süren).

Maruz kalmalar aşağıda belirtilenler cinsinden ifade edilir:

- Kuşlar tarafından tüketilen gıdalardaki maddenin *konsantrasyonu* (örneğin, kilogram (kg) gıda başına miligram (mg) test maddesi⁶) veya
- vücut ağırlığına göre ifade edilen *doz* (örn. mg test maddesi/kg vücut ağırlığı (tek bir maruz kalmadan fazla ise günlük)).

Bir kuş toksisitesi çalışmasının ana sonuçları şunları içerir:

- ölüm oranının olmadığı sınır doz (LD₀);
- kuşların %50'sinin öldüğü medyan öldürücü doz veya konsantrasyon (LD(C)₅₀);
- belirli tipte hiçbir etkinin meydana gelmediği bir 'etki gözlenmeyen' seviye veya test edilen bireylerin %x'inde tanımlanmış bir etki seviyesinin görüldüğü konsantrasyon veya kimyasal uygulanmamış kontrole kıyasla %x'lik ortalama bir sapmanın görüldüğü bir konsantrasyon. (EC_x); ve
- Belirli bir maruz kalma senaryosunda (örneğin bir saha çalışmasında) gözlemlenen etkilerin türü ve sıklığına ilişkin bir açıklama.

Diğer bilgi türleri arasında bir doz-cevap ilişkisinin eğimi, medyan öldürücü seviye ve/veya eğim için %95 güven sınırları ve etkilerin ortaya çıktığı zaman bulunabilir.

R.7.10.16.2 Kuş toksisitesi hakkında rehberin amacı

Kuşlara ait toksisite verileri, KGD içerisinde sucul ve karasal besin zincirleri için ikincil zehirlenme⁷ risklerinin değerlendirilmesinde kullanılır. PBT/vPvB değerlendirmesi bağlamında (bkz. Bölüm [R.7.10.20](#)), kuş toksisitesi verileri T kriteri ile doğrudan (sayısal olarak) karşılaştırılmaz (bkz. KKDİK Ek 13, Bölüm 1.1.3). Bununla birlikte, eğer varsa, kuşlar üzerindeki üreme sistemi toksisitesi çalışmaları veya diğer kronik veriler, madde toksisitesi hakkında sonuca varmak için kanıt ağırlığı belirlemesinin bir parçası olarak diğer toksisite kanıtlarıyla birlikte kullanılmalıdır (bir uzun süreli kuş çalışmasında NOEC ≤ 30 mg/kg gıda değeri, bu bağlamda, T kriterinin karşılanmasının güçlü bir göstergesi olarak düşünülmelidir).

R.7.10.17 Kuş toksisitesi üzerine bilgi gereklilikleri

KKDİK Yönetmeliği Ek 10, kuşlara yönelik uzun süreli veya üreme toksisitesi hakkındaki bilgilerin, 1000 ton/yıl veya üzeri miktarlarda imal veya ithal edilen tüm maddeler için dikkate alınması gerektiğini belirtir.

⁶ mg/kg birimleri, milyonda bir (ppm) olarak da ifade edilebilir.

⁷ İkincil zehirlenme, maddeyi içeren av öğelerinin (yani balık ve solucan) yutulmasının ardından yırtıcı bir kuş veya memeli üzerindeki bir maddenin potansiyel toksik etkisi ile ilgilidir. Besin zinciri boyunca madde birikimi, farklı trofik seviyeler boyunca birçok farklı yolu izleyebilir. Bu değerlendirme, biyobirikim potansiyeli göstergesi olan maddeler için gereklidir ([Ek R.7.10-3](#)).

Bu sonlanma noktası omurgalı testleriyle ilgili olduğu için, KKDİK Ek 11 de geçerlidir ve alternatif bilgilerin kullanımını teşvik eder. KKDİK Ek 10 2. sütununda listelenmemiş olsa da, maruz kalma hususları da vardır (bkz. Bölüm [R.7.10.19.4](#)).

Daha düşük tonajlarda belirtilmemesine rağmen, bazı maddeler için mevcut veriler bulunabilir. Bunlar çoğunlukla akut çalışmalardandır ve bu belge, yorumlanmaları ve kullanımları hakkında rehberlik sağlar. Bununla birlikte, uzun süreli beslenme çalışmalarından elde edilen veriler en ilgili olanlardır çünkü:

- Kuşlar için çok az (varsa) senaryoların akut zehirlenme riskine yol açma olasılığı vardır ve
- Pestisitlerden elde edilen kanıtlar, kronik etkilerin güvenilir bir şekilde tahmin edilemeyeceğini veya akut toksisite verilerinden çıkarılamayacağını göstermektedir (Sell, tarihsiz).

PBT/vPvB değerlendirmesi:

PBT/vPvB değerlendirmesi bağlamında, kayıt ettirenin ilgili mevcut bilgileri kullanarak PBT/vPvB değerlendirmesinde (i) ("Madde PBT ve vPvB kriterlerini karşılamamaktadır") veya (ii) ("Madde, PBT veya vPvB kriterlerini karşılamaktadır") şeklinde kesin bir sonuca varamaması durumunda, KKDİK Yönetmeliği, Ek 13, Bölüm 2.1 uyarınca tonaj bandından bağımsız olarak gerekli bilgiler üretilmelidir (daha fazla ayrıntı için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.11).

Genel varsayım, kuş toksisitesi testinin normalde gerekli olmayacağıdır. Aynı zamanda, kuşlar için potansiyel zararı küçümsemek için özen gösterilmelidir. Yeni çalışmalar yalnızca mevcut tüm kanıtların dikkatli bir şekilde değerlendirilmesinin ardından önerilmelidir.

R.7.10.18 Kuş toksisitesi hakkında mevcut bilgiler

Aşağıdaki bölümler, laboratuvar testlerinden elde edilebilecek veri türlerini özetlemektedir.

Kuş toksisitesi testleri genellikle yasal onay gerekliliklerinin bir sonucu olarak kasıtlı biyolojik aktiviteye sahip maddeler için (özellikle bitki koruma ürünlerinde kullanılan aktif maddeler, ayrıca veteriner ilaçları ve biyositler) gerçekleştirilir. Diğer birçok madde için nadiren yapırlar. KKDİK Yönetmeliği bu tür ürünler için geçerli olmasa da, bu bağlamda bir analog veri kaynağı olarak ilgilidir.

Şu anda pestisitler, biyositler veya veteriner ilaçlar için hiçbir Avrupa veri tabanı bulunmamaktadır, ancak bazıları geliştirme aşamasındadır (örn. Bitki Koruma Ürünleri ve Bunların Metabolitleri Üzerine Mevcut Ekotoksikoloji Verilerinin İstatistiksel Değerlendirmesi (SEEM) veri tabanı). Mevcut pestisit veri kaynakları şunları içerir:

- İngiltere Ekin Koruma Konseyi Pestisit Rehberi (BCPC, 2003),
- Almanya Tarım ve Ormanlık için Federal Biyolojik Araştırma Merkezi (BBA) veritabanı (<http://www.bba.de/english/bbaeng.htm>),
- Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (Anses) AGRITOX veritabanı (<http://www.agritox.anses.fr/index2.php>),

- ayak izi veritabanı (<http://sitem.herts.ac.uk/aeru/iupac/> ve
- çeşitli ABD-EPA veritabanları (<http://www.epa.gov/pesticides/>).

Genel aramalarla, yasal kurumlardan veya EXTOWNET projesinden (California-Davis Üniversitesi, Oregon Eyalet Üniversitesi, Michigan Eyalet Üniversitesi, Cornell Üniversitesi ve Idaho Üniversitesi'nin ortak projesi, <http://extownet.orst.edu/>) belge edinilebilir. Son olarak, IUCLID, yüksek imalat hacimli maddeler için doğrulanmamış veri sayfaları içerir, bunlardan birkaçı kuş toksisitesi ile ilgili verileri içerebilir (<http://esis.jrc.ec.europa.eu/>).

R.7.10.18.1 Kuş toksisitesi üzerine laboratuvar verileri

Kuş toksisite üzerine test verileri

In vitro veriler

Şu anda mevcut veya geliştirilmekte olan özel bir kuş *in vitro* yöntemi yoktur. Memelilerde embriyotoksik potansiyeli ve endokrin bozucu özellikleri değerlendirmeye yönelik bir dizi *in vitro* test son yıllarda kullanıma sunulmuştur ve bunlar, üreme ve gelişimsel toksisite hakkındaki özel rehberde tartışılmıştır (bkz. Bölüm R.7.6).

In vivo veriler

[Tablo R.7.10—4](#) mevcut ana test yöntemleri ile taslak OECD test rehberleri olarak önerilenleri özetlemektedir. Üç temel kuş testi - akut, beslenme ve üreme - için rehberler şu anda gözden geçirilmektedir. Daha fazla ayrıntı, İki Nesil Kuş Testleri için Ayrıntılı İnceleme Belgesinde (OECD 2006a) bulunabilir. Akut testlerin normalde endüstriyel ve tüketici kimyasalları için düşünülen maruz kalma senaryoları ile ilgili olmayacağı unutulmamalıdır, ancak veriler bazı maddeler için zaten mevcut olabileceğinden bunlar dahil edilmiştir.

Son on yılda kuş toksisitesi testi hususlarına ilişkin bir dizi inceleme yapılmıştır ve daha fazla ayrıntı gerekirse bunlara başvurulmalıdır. Hepsi pestisit odaklıdır. En güncel incelemeler Hart ve ark. (2001), Mineau (2005), Bennett ve ark. (2005) ve Bennett ve Etterson (2006) çalışmalarıdır. Diğer yararlı bilgi kaynakları arasında ABD Çevre Koruma Ajansı (1982a, 1982b ve 1982c), SETAC (1995), OECD (1996), EC (2002a ve 2002b) ve EPPO (2003) yer alır.

Zaman zaman rehber dışı toksisite çalışmalarına rastlanabilir (örn. enjeksiyon veya daldırma içeren yumurta maruz kalma çalışmaları). Sonuçları karşılaştırmak için standartlaştırılmış ve kalibre edilmiş cevap değişkenlerinin eksikliği nedeniyle bu tür çalışmaların yorumlanması zor olabilir. İlave olarak, maruz kalma yolu genellikle KGD'de dikkate alınan beslenmeyle maruz kalma yoluna sınırlı bir ilgiye sahip olacaktır. Yumurtalardaki metabolizma ayrıca vücuttakinden çok farklı olabilir. Bu nedenle, bu tür çalışmaların nicel risk değerlendirmesinde kullanım hakkında bilgi sağlaması olası değildir, ancak daha fazla araştırma gerektiren toksisite kanıtları sağlayabilir.

Kuş toksisitesi üzerine test dışı veriler

(Q)SAR modelleri

Bobwhite bıldırcınının hem 14 günlük oral hem de 8 günlük beslenme yoluyla maruz kalmasını takiben toksisite, "DEMETRA" (Tarımda Pestisit Kalıntılarının Toksikitesinin Değerlendirilmesi için Çevresel Modüllerin Geliştirilmesi) adlı ücretsiz bir web tabanlı modelleme aracı kullanılarak pestisitler ve metabolitleri için tahmin edilebilir (<http://www.demetra-tox.net/>; Benfenati, 2007). Model, resmi rehberlere göre üretilen deneysel veriler kullanılarak geliştirilmiş ve harici test setleri kullanılarak doğrulanmıştır. OECD rehberlerine⁸ göre bir dizi kalite kriteri ele alınmıştır. Mevcut durumda, bu modelin diğer madde türleri için yararlı olup olmayacağı belirsizdir.

Şu anda başka bir Q (SAR) modeli mevcut değildir.

⁸ ECB, alan hakkında bilgiler, eğitim setindeki maddelerin sayısı vb. sağlamak için bir QRF oluşturmak isteyebilir.

Tablo R.7.10—4 Mevcut ve önerilen standartlaştırılmış kuş toksisitesi testlerinin özeti

Test	Rehber	Testin özeti	Türetilen bilgiler
Akut oral toksisite ⁹	Taslak OECD Test Rehberi 223 (OECD, 2002) USEPA/O PPTS 850.2100 (ABD-EPA, 1996a)	Test, kuşların test maddesinin ölçülen tekli oral dozlarına doğrudan maruz bırakılmasını ve ardından birkaç gün gözlem yapılmasını içerir. Uygulama, uygun bir çözücü taşıyıcı veya jelatin kapsüller içinde gavaj yoluyla yapılır. En yüksek dozun 2,000 mg/kg vücut ağırlığı değerini aşması gerekmez. Toksosite değerlendirmesini tehlikeye attığı için kusma önlenmelidir. Doz hacmini düşürmek veya taşıyıcıları değiştirmek, kusma sıklığını azaltabilir.	Test, standart bir doğal toksisite indeksi görevi gören nicel bir ölüm oranı ölçütü (LD ₅₀ değeri) sağlar, çünkü kuş davranışı (yani beslenme tüketimi) alınan dozu etkileyemez. Bu nedenle, diğer çalışmalar için aralık bulma amacıyla ve karşılaştırmalı çalışmalar için genel bir rehber olarak yararlıdır. Sonuçlar, çok kısa süreli maruz kalmalarla ilgilidir ve kronik toksisiteyi belirtmek için kullanılamaz. Bu nedenle, bu test, besin zinciri risklerinin değerlendirilmesi için düşük önem taşımaktadır.
Beslenme yoluyla toksisite	OECD Test Rehberi 205 (1984a) USEPA/OPPTS 850.2200 (ABD-EPA, 1996b)	Bu, 10 günlük kuş gruplarının 5 günlük bir süre boyunca beslenmelerinde test maddesinin dereceli konsantrasyonlarına (bir aralık bulma testinde belirlenen) maruz bırakıldığı ve ardından bir iyileşme dönemi bulunan kısa süreli bir testtir. Çok uçucu veya kararsız bileşikler için çoklu oral dozlama gerekli olabilir. Test, gerçekçi saha koşullarını temsil veya öldürücülük düzeyi altındaki etkilerin iyi bir karakterizasyonunu sağlamak için tasarlanmamıştır. Diğer dezavantajlar şunları içerir: gıdadan kaçınma ¹⁰ ve tekrar eksikliği (testin etkileri belirleme gücünü sınırlar).	Test, nicel bir ölüm oranı ölçümü sağlar (örn. 5 günlük LC ₅₀ değeri) ve kronik üreme sistemi testi için bir aralık bulmaya yarayabilir (aralık bulma testi LC ₅₀ değerinin 5,000 mg/kg beslenme üzerinde olduğunu gösteriyorsa tam test gerekli değildir).

⁹ Bu iki test yöntemini tek bir uluslararası uyumlaştırılmış test rehberinde birleştirme çabaları şu anda OECD Test Rehberi Programında devam etmektedir

¹⁰ Gıdadan kaçınma cevapları, bir maddenin zararlılığını etkileyebilir ve ayrıca maruz kalmayı kısıtlayarak risk potansiyelini etkileyebilir, ancak bu türler arasında değişiklik gösterir. Kuş Kaçınma Davranışının Test Edilmesine İlişkin taslak OECD Rehber Dokümanı geliştirme aşamasındadır (OECD 2003). Test Rehberi 205'in mevcut revizyonunda, yöntem, kaçınma davranışının değerlendirilmesinde de kullanılabilir bilgileri üretmek için revize edilecektir. Henüz kuş kovuculuğu konusunda uluslararası bir protokol bulunmamaktadır. Bununla birlikte, böyle bir testin amacı, yani kovucu maddelerin taranması, revize edilmiş bir beslenme rehberinin sonuçları kullanılarak gerçekleştirilebilir (OECD, 2006b).

Test	Rehber	Testin özeti	Türetilen bilgiler
Üreme ¹¹	OECD Test Rehberi 206 (1984b) USEPA/OPPTS 850.2300 (ABD-EPA, 1996c)	Yetiştirilen kuşlar, uzun süreli (sub-kronik) bir periyot boyunca beslenme yoluyla en az üç test maddesi konsantrasyonuna maruz bırakılır. En yüksek konsantrasyon, akut beslenme LC ₁₀ değerinin yaklaşık yarısı olmalıdır; daha düşük konsantrasyonlar, en yüksek dozun oranlarında geometrik olarak aralıklandırılmalıdır. Üst doz limiti 1000 ppm olarak ayarlanmalıdır (şiddetli ebeveyn toksisitesine neden olmadıkça). Test maddesi, beslenmede homojen karışıma izin veren özelliklere sahip olmalıdır. Test rehberi, çok uçucu veya kararsız maddeler için kullanılamaz.	Test, ciddi ebeveyn toksisitesine neden olanlardan daha düşük maruz kalma seviyelerinde gonadal (cinsiyet bezi ile ilgili) işlevsellikle bağlantılı üreme performansı üzerindeki olumsuz etkilerin tanımlanmasını sağlar. En önemli sonlanma noktası, cinsel olarak uygun yetişkinler haline gelme potansiyeline sahip yavru kuşların üretimidir. Diğer ara parametreler de ölçülür (örn. yetişkinlerin ölüm oranı, yumurtlamanın başlangıcı, üretilen yumurta sayısı, yumurta kabuğu parametreleri, doğurganlık, yumurtadan çıkma kapasitesi ve genç kuşlar üzerindeki etkiler). Bunlar, genel üreme başarısına katkıda bulunan toksisite mekanizmaları hakkında bilgi verebilir. Test, testin istatistiksel gücüyle birlikte bir NOEC değeri (yani, canlı yavru kuşların üretiminde hiçbir azalma göstermeyen yetişkin beslenmesindeki konsantrasyon) sağlamalıdır. Testin sonuçlarını risk değerlendirmesi için kullanırken tüm sonlanma noktalarının dikkate alınması çok önemlidir. Genel yavru kuş üretiminde bir sorun olmaması durumunda ara sonlanma noktalarına verilen ağırlık, durum bazında bir karardır ve vahşi doğada olası veya muhtemel sonuçlar değerlendirildikten sonra verilmesi gerekir. Ölçülen parametrelerin her biri üzerindeki etkilerin ekolojik önemi farklılık gösterebilir.

Kovuculuk, yalnızca düşük konsantrasyonlarda test maddesi içeren uzun süreli sonlanma noktaları sınırlı uygunluğa sahiptir. Gerekirse daha fazla rehberlik ana metinde belirtilen referanslarda bulunabilir.

¹¹ Tek nesilli bir test, OECD taslak Test Rehberi (2000) Japon Bildircını veya Kuzey Bobwhite Türünde Kuş Üreme Sistemi Toksisitesi Testi) geliştirmek için bazı çalışmalar yapılmıştır, ancak bu henüz daha fazla tartışılmak için uygun bir aşamada değildir.

Test	Rehber	Testin özeti	Türetilen bilgiler
İki nesil kuş üreme sistemi toksisitesi	Taslak OECD Test Rehberi önerisi (OECD, 2006)	Önerilen rehber, bir kimyasalın iki nesil boyunca bir bıldırcın türünde geniş bir üreme uygunluk seti ve fizyolojik sonlanma noktaları üzerindeki etkilerini incelemeyi amaçlamaktadır. Bununla birlikte, birkaç araştırma alanı tanımlanmıştır ve kararlaştırılmış bir test rehberinin bir süre için mevcut olması olası değildir.	Test, etkilerin endokrin fonksiyonundaki birincil bir rahatsızlık mı (endokrin sistem üzerinde doğrudan etkiler) yoksa ikincil bir rahatsızlık mı (diğer hedef organlar üzerinde endokrin etkilere neden olan etkiler) olup olmadığını belirlemek için tasarlanmıştır. Şu anda, kapsanacak sonlanma noktaları arasında yumurta üretimi ve canlılığı, kuluçka başarısı, yavru kuşların 14 günlük olana kadar hayatta kalması, genetik cinsiyet, cinsel olgunluğun başlangıcı, vücut ağırlığı ve erkek çiftleşme davranışı, genel morfoloji ve belirli organların histolojisi ile cinsiyet hormonları, kortikosteron ve tiroid hormonlarının seviyeleri bulunmaktadır.

Çapraz okuma ve kategoriler

Kuş toksisitesi için çapraz okuma yaklaşımları hakkında deneyim, endüstriyel ve tüketici kimyasalları için çok sınırlıdır. Bu nedenle, memeli testlerinde olan ile aynı yaklaşım benimsenmelidir (üreme ve gelişimsel toksisite hakkında özel rehberlik için bkz. Bölüm R.7.6).

İlave olarak, maddenin, organofosfatlar, belirli metaller ve bunların bileşikleri (örn. Kadmiyum, kurşun, selenyum) ve belirli pestisit veya veteriner ilaçların aktif maddeleri (örn. DDT) gibi kuşların özellikle hassas olduğu bilinen diğer maddelere yapısal benzerliği olup olmadığı dikkate alınmalıdır. Kronik kuş toksisitesi için yapısal uyarıları belirlemek için daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

R.7.10.18.2 Kuş toksisitesi üzerine saha verileri

Saha verileri genellikle mevcut olmayacaktır ve kayıt ettirenin kuş etkilerini aramak için (bazen pestisitler için gerekli olduğu gibi) belirli bir saha çalışması yürütmesi olası değildir. Metodoloji ile ilgili tavsiyeler EC (2002a) içerisinde verilmiştir ve daha fazla tartışma Hart ve ark. (2001) ve SETAC (2005) kaynaklarında sağlanmıştır. Bu tür çalışmalardan elde edilen verilerin türü, kısa süreli etkilere odaklanma eğiliminde olmalarına ve bu nedenle uzun süreli etkilerin risk değerlendirmesinde sınırlı kullanımına rağmen, test tasarımına göre değişir.

Yaban hayatta olay incelemesi veya diğer izleme programları, kuşların belirli bir maddeye maruz kalmadan etkilendiklerine dair nadiren bazı kanıtlar sağlayabilir. Yorumlama genellikle karmaşıktır ve gözlemlenen etkileri belirli bir nedene atfetmek zor olabilir. Bununla birlikte, bu tür veriler, ikincil zehirlenmeye bağlı risklerin durum bazında değerlendirilmesini desteklemek için kullanılabilir.

R.7.10.19 Kuş toksisitesi üzerine mevcut bilgilerin değerlendirmesi

R.7.10.19.1 Kuş toksisitesi üzerine laboratuvar verileri

Kuş toksisite üzerine test verileri

İn vitro veriler

Şu anda belirli bir kuş yöntemi mevcut değildir. Üreme toksisitesi ve gelişimsel toksisiteye ilişkin özel rehber (bkz. Bölüm R.7.6), memeli üremesiyle ilgili bazı test tiplerinin değerlendirilmesi konusunda rehberlik sağlar. Bunların, uzun süreli toksisitenin yalnızca bir - ancak çok önemli - yönü için geçerli olduğu unutulmamalıdır. İlave olarak, bu testler metabolizmayı hesaba katmaz ve metabolik hızlar ve yollar, kuşlar ve memeliler arasında önemli ölçüde farklılık gösterebilir.

İn vivo veriler

İdeal olarak, test sonuçları, uygun kalite güvence ile standart rehberlere göre yürütülen çalışmalardan elde edilebilir ve ham verileri içerecek kadar ayrıntılı olarak rapor edilir. Diğer çalışmalardan elde edilen veriler durum bazında ele alınmalıdır. Örneğin, modern standartlardan herhangi bir sapmayı belirlemek ve sonucun güvenilirliği üzerindeki etkilerini değerlendirmek için uzman görüşüne ihtiyaç vardır. Standart olmayan bir test, diğer çalışmalarda tanımlanmamış olası etkilerin bir göstergesini veya çok düşük veya yüksek toksisitenin kanıtını sağlayabilir. Veriler kullanılıyorsa, bunun bilimsel olarak gerekçelendirilmesi gerekir.

Beslenmeyle maruz kalmayı içeren testler için, gıdalarda maddenin kararlılığı ve homojenliği korunmalıdır. Son derece uçucu veya kararsız maddeleri içeren çalışmaların sonuçları bu nedenle dikkatli bir değerlendirme gerektirmektedir ve bu tür maddeleri veya beslenmede başka şekilde uygun bir formda uygulanamayacakları yeterince test etmek mümkün olmayabilir. Bu gibi durumlarda, benzer nedenlerden ötürü kuşların da beslenme yoluyla maddeye maruz kalması olası değildir. Taşıyıcı kullanılıyorsa, düşük toksisiteye sahip olmalı ve test maddesinin toksisitesine girişimde bulunmamalıdır. Geçerlilik kriterleri OECD rehberlerinde verilmiştir.

Akut/kısa süreli testler

Mevcut akut test verileri, tercih edilmemelerine rağmen başka kuş verileri yoksa faydalı olabilir. Kusma, akut oral toksisite testlerinde emilen dozu önemli ölçüde azaltabilir ve bu nedenle test sonuçlarının yorumlanmasını etkileyebilir.

Benzer şekilde, beslenme testlerinde gıdadan kaçınma, kimyasal toksisiteden ziyade açlıkla ilgili etkilere neden olabilir. Bu nedenle testler, bu tür cevapların herhangi bir kanıtı için dikkatlice yorumlanmalıdır - tüm dozlarda kusma meydana gelirse test geçerli olmayabilir.

Uzun süreli testler

[Tablo R.7.10—5](#)'te listelendiği gibi, uzun süreli testlerin değerlendirilmesinde bir dizi konu dikkate alınmalıdır. Prensipte olarak, yalnızca hayatta kalma oranı, üreme oranı ve bireylerin gelişimi ile ilgili sonlanma noktaları ekotoksikolojik olarak ilişkilidir.

Tablo R.7.10—5 Uzun süreli toksisite testleri için yorumlama sorunlarının özeti

Uzun süreli test sorunu	Yorum
Sonlanma noktası kategorisi	<p>Üreme sistemi testleri, ebeveyn ve üreme sonlanma noktalarını içerir. Genel üreme başarısı ile ilgili bir sonlanma noktası, normalde uzun süreli NOEC tanımlamak için seçilmelidir. Bireysel duruma ve verilerin mevcudiyetine bağlı olarak bu, üreme oranı, yavruların hayatta kalma veya büyüme oranı veya yetişkinlerde veya gençlerde davranışsal parametreler olabilir.</p> <p>Bazı durumlarda, diğer sonlanma noktaları (örn. belirli biyokimyasal cevaplar), ekolojik olarak ilgili olmasalar da daha hassas olabilir. Varsa, bu tür verilerin yorumlanmasına ilişkin rehberlik OECD (1996) kaynağında verilmektedir. Özet olarak, biyolojik önemi olan herhangi bir sonuç şu değişikliklere dayanmalıdır:</p> <p>Doz-cevap tarzında meydana gelen (yani daha yüksek maruz kalma gruplarında daha bol veya belirgindir);</p> <p>Doğrulayıcı değişikliklerin (yani bir biyokimyasal parametre veya organ ağırlığındaki farklılıklar veya doku yapısında histolojik olarak gözlemlenebilir değişiklikler) eşlik ettiği; ve,</p> <p>En önemlisi, hayvanın vahşi doğada hayatta kalma, büyüme veya üreme yeteneğini tehlikeye atacak olumsuz bir durumla ilgili olan (örneğin, vücut ağırlığı ve gıda tüketimi üzerinde belirgin etkiler (eğer bu toksik bir cevapsa ve kaçınma neden olmadıysa)) .</p>
İstatistiksel güç	<p>NOEC, kontrole kıyasla istatistiksel anlamlılığın olmamasıyla belirlenen testin en hassas sonlanma noktasına dayanmaktadır. Bu, mutlaka biyolojik anlamlılığa eşit değildir. Örneğin, yüksek kaliteli (düşük varyasyon (değişkenlik) katsayısı, yüksek güç) bir kuş üreme testinde, yumurtadan çıkma ağırlığında %5'lik bir sapmanın istatistiksel olarak anlamlı olduğunu kanıtlamak mümkün olabilir, ancak bu normal testlerde tespit edilemez. 14. günde yavru kuş ağırlığı normal ise, böyle bir etki biyolojik olarak anlamlı kabul edilmemelidir.</p> <p>Bu nedenle NOEC, risk değerlendirmesi için en kötü durum değeri olarak kullanılabilir, ancak gerekirse NOEC değerinin üzerindeki dozlarda görülen etkilerin ekolojik uygunluğunu dikkate alarak bunu iyileştirmek mümkün olabilir (örn. bkz. Bennett ve ark., 2005).</p>
Etkilerin zaman akışı	<p>Maruz kalmanın sona ermesinden sonra geçici veya geri döndürülebilir öldürücü etkiler, sürekli veya geri döndürülemez etkilerden daha az ilişkilidir (bu, geri dönüşün ne kadar hızlı gerçekleştiğine bağlı olabilir). Bir çoklu nesil çalışmasında üreme etkileri ikinci nesilde daha belirgin iken uygulamada maruz kalma kısa bir süre ile sınırlandırılacaksa, ilk nesilden sonraki üreme NOEC olası bir iyileştirme adımı olarak kullanılmalıdır (istisnai durumlar hariç, örneğin, şüpheli endokrin bozucular bulunması durumunda, ikinci nesildeki etkilerin birinci nesildeki kısa maruz kalma süresine atfedilebildiği durumlar).</p>

Uzun süreli test sorunu	Yorum
Ebeveyn toksisitesi	Mümkünse ebeveyn toksisitesinden kaçınılmalıdır. Sadece konsantrasyon aralığında gözlemlenen ve açıkça ebeveyn toksisitesine yol açan etkiler, dikkatli bir şekilde ele alınmalıdır. Örneğin, yumurtlamadaki bir düşüş, yetişkin kuşlar tarafından azalan beslenmenin bir sonucu olabilir ve bu nedenle üreme etkisi olmayacaktır.
Maruz kalma hususları	Oldukça hidrofobik maddeler veya aksi takdirde önemli ölçüde birikmesi beklenen maddeler için, dokulardaki maddenin ölçümleri, maruz kalma süresinin bitiminden önce konsantrasyonların bir plato (düzlük) seviyesine ulaşmış olduğunu belirlemek için ilave bir sonlanma noktası olarak düşünülmelidir.

Kuş toksisitesi üzerine test dışı veriler

(Q)SAR modelleri

Pestisitler için geliştirilmiş QSAR modelleri kullanılıyorsa, bunların belirli bir maddeyle ilgisi dikkate alınmalı ve açıklanmalıdır (özellikle uygulanabilirlik alanıyla ilgili olarak). QSAR yaklaşımları, hem kapsanan sonlanma noktaları (yani yalnızca akut etkiler) hem de kimyasal alan açısından, maddelerin çoğu için öngörülebilir gelecekte muhtemelen uygun olmayacaktır.

Çapraz okuma ve kategoriler

Memeli akut toksisitesi (bkz. Bölüm R.7.4), tekrarlı doz toksisitesi (Bölüm R.7.5) ve üreme sistemi toksisitesi çalışmaları (Bölüm R.7.6) ile aynı ilkeler geçerlidir. İdeal olarak, maddeler benzer fiziko-kimyasal özelliklere ve toksikokinetik profillere sahip olmalıdır ve gözlemlenen herhangi bir kuş toksisitesinde hangi fonksiyonel grupların rol oynadığı hakkında bilgi mevcut olacaktır. Karşılaştırma, kuşlar ile balıklarda ve memelilerde gözlemlenen üreme veya diğer kronik etkileri hesaba katmalıdır. Bir maddenin mutlak toksisitesi, balıklardan veya memelilerden kuşlara doğrudan ekstrapole edilemez, ancak bağıl hassasiyet bazı durumlarda yeterli kanıt sağlayabilir.

R.7.10.19.2 Kuş toksisitesi üzerine saha verileri

Saha çalışmalarının yabani kuşlarda kronik etkilere işaret etmesi çok alışılmadık bir durum olacaktır ve bunların duruma göre değerlendirilmesi gerekir. Sonuçlar dikkatle yorumlanmalı ve belirli bir maddenin hangi seviyesinin gözlenen etkiyle bağlantılı olduğuna karar vermeden önce karıştırıcı faktörler ele alınmalıdır. Çalışmanın ilgi seviyesi ve istatistiksel gücü de değerlendirilmelidir. Daha fazla tartışma, Hart ve ark. (2001) ve OECD (1996) kaynaklarında sağlanmıştır.

R.7.10.19.3 Kuş toksisitesi için kalan belirsizlik

Maddelerin çoğu için kuş toksisitesi verileri mevcut değildir. İkincil zehirlenme değerlendirmeleri bu nedenle genellikle memeli toksisitesi verilerine dayanır. Kronik maruz kalmadan sonra kuşların ve memelilerin bağıl hassasiyetleri daha fazla araştırma gerektirir. Örneğin, pestisit verilerinden, kuşların bazı durumlarda bir basamak daha hassas olabileceğine dair bazı kanıtlar vardır. Analog maddeler arasında çapraz okumanın geçerliliği de test edilmemiştir.

Çalışmalar mevcut olduğunda bile, kuşlara etkilerin değerlendirilmesinde dikkate alınması gereken birçok belirsizlik kaynağı vardır. Laboratuvarda yalnızca çok az tür test edilir ve türler ve bireyler arasında cevapta önemli değişkenlik ve laboratuvar ile saha durumları arasında farklılıklar (örn. beslenme kalitesi, stres etkenleri, zaman içinde maruz kalmada farklılık) olduğunun bilinmesi önemlidir. Daha fazla ayrıntı, Hart ve ark. (2001) kaynağında sağlanmıştır. Bu hususların, ekstrapolasyon veya değerlendirme faktörü kullanılarak toplu olarak karşılandığı varsayılır (bkz. Bölüm [R.7.10.20](#)). Bu faktörlerin belirsizliklere karşı kalibre edilmediği unutulmamalıdır.

İlave olarak, ikincil zehirlenme risklerinin tarama değerlendirmesine yönelik model besin zincirinin nispeten basit olduğu ve bir dizi varsayıma dayandığı unutulmamalıdır (daha fazla ayrıntı için bkz. Bölüm [R.7.10.8](#)). Maruz kalma senaryosunu iyileştirmek çoğu zaman mümkün olabilir (örneğin gıda ve beslenme alışkanlıklarında maddenin biyoyararlanımı ve/veya emisyon, bozunma veya izleme verileri gibi daha iyi maruz kalma bilgileri toplamaya ilişkin olarak, örn. besin zincirinin en önemli av ve yırtıcı organizmaları hakkında daha özel bilgilerin kullanımı dahil olmak üzere daha karmaşık modelleme yoluyla). Yapılan hesaplamalardan bağımsız olarak, bir hassasiyet analizi yapmak, yani bazı ilişkili belirsizlikleri olan öğeleri listelemek ve bu belirsizliklerin değerlendirmenin sonuçları üzerindeki genel etkisiyle birlikte ölçülüp ölçülmeyeceğini tartışmak her zaman yararlıdır.

Karmaşık karışımlar için, toksisite testi sonucunun bütün madde cinsinden ifade edilmesi muhtemeldir. Bununla birlikte, maruz kalma konsantrasyonu farklı temsili bileşenler için türetilebilir, bu durumda PEC/PNEC karşılaştırması, toksisite verilerinin tüm bileşenler için uygun olup olmadığına ve herhangi bir belirli bileşen için daha fazla toksisite verisine ihtiyaç olup olmadığına karar vermek için uzman değerlendirmesi gerektirecektir.

R.7.10.19.4 Kuş toksisitesi için maruz kalma hususları

Ek 10 2. sütununda maruz kalmayla ilgili hiçbir özel hariç tutma kriteri verilmemiştir.

Pestisit risk değerlendirmesinde, üreme sistemi testlerinin gerekliliğine ilişkin kararlar, yetişkin kuşların üreme mevsiminde maruz kalıp kalmadığına bağlı olabilir (EC, 2002a). Bununla birlikte, endüstriyel veya tüketici kimyasalının kullanımının üreme mevsiminde maruz kalmayı hariç tutacak kadar kısıtlanması pek olası değildir. Bazı durumlarda, kullanım şekli kuşların maruz kalmasını sınırlayabilir. Örneğin, imalat ve kullanım yalnızca çok düşük salımların olduğu az sayıdaki endüstriyel tesiste gerçekleşebilir ve ürünlerden herhangi bir önemli salım olasılığı düşüktür (bir örnek, dolgu katkı maddesi olabilir). Maruz kalmanın ihmal edilebilir olduğu durumlarda, bunun maddenin yaşam döngüsünün tüm aşamalarını kapsadığına dikkat edilerek uygun bir gerekçe gösterilmelidir.

Havaya, suya ve/veya toprağa salım meydana gelebilirse, 1000 ton/yıl seviyesinde yeni bir kuş toksisitesi testi yapma ihtiyacına, ikincil zehirlenme için bir risk değerlendirmesi ardından karar verilmelidir.

Kuşların maruz kalmasının, bir maddenin atık su arıtma çalışmaları¹² yoluyla salımını takiben, genellikle sadece balık ve solucan besin zincirleri için dikkate alındığına dikkat edilmelidir. İkincil bir zehirlenme değerlendirmesi yapma ihtiyacı bir dizi faktör tarafından tetiklenir (daha fazla bilgi için bkz. Bölüm R.16.4.3.5). Bu kriterler karşılanmazsa, kronik kuş toksisitesinin daha fazla araştırılmasına gerek kalmaz. Örneğin, aşağıdaki maddeler için ikincil bir zehirlenme riskinin tanımlanması olası değildir:

- kolay biyobozunur olan maddeler ve
- balıklarda ve solucanlarda düşük bir biyobirikim potansiyeline sahip olan maddeler (örn. 100'ün altında bir balık BCF değeri veya nötr organik maddelerle ilgili bu tür verilerin yokluğunda 3'ün altında log K_{ow} değeri).

Bu özellikler, bu nedenle, kuşlar için düşük maruz kalma potansiyelini göstermeye yönelik bir savunmanın bir bölümü halinde kullanılabilir, ancak dikkat gösterilmesi gerekebilir (örn. bazı durumlarda, örnek olarak yaygın dağılımlı sürekli salımlar nedeniyle yüksek yerel konsantrasyonlara hala ulaşılabilir).

R.7.10.20 Kuş toksisitesi için varılan sonuçlar

Amaç, mevcut verilere dayanarak kuşlar için PNEC türetmektir. Güvenilir nicel yapı aktivite ilişkilerinin ve *in vitro* yöntemlerin bulunmaması halinde, çoğu durumda, kuş toksisitesini tahmin etmeye yönelik ilk girişimin, uygun analog maddelerden çapraz okuma yoluyla (muhtemelen bir kategorinin parçası olarak) yapılması beklenir. Tercih edilen değer, değerlendirmede kullanılmak üzere bilimsel olarak gereğelenmelidir.

R.7.10.20.1 PBT/vPvB değerlendirmesi uygunluğuna ilişkin sonuç

PBT/vPvB değerlendirmesi bağlamında, kuş toksisitesi verileri, madde toksisitesi hakkında bir sonuca varmak için kanıt ağırlığı belirlemesinin bir parçası olarak diğer toksisite kanıtlarıyla birlikte kullanılmalıdır. Mevcut kuş toksisitesi çalışmasının kalitesi düşükse veya etki belirsizse veya yalnızca küçük semptomlara dayanıyorsa, karar genel değerlendirme için kritikse ek bir çalışma gerekebilir, bu durumda bir sınır testi tercih edilir. Etkinin ekolojik önemi de dikkate alınmalıdır (örn. doğal stres faktörlerine kıyasla öldürücü olmayan bir etki ne kadar önemlidir ve nüfusun kararlılığı veya ekosistem işlevi üzerindeki etkileri ne olur?). Daha fazla rehberlik Bennett ve ark. (2005) çalışmasında sağlanmıştır.

[BG ve KGD Rehberinde](#) Bölüm R.11 içerisinde kriterlere ilişkin daha fazla bilgi verilmektedir.

R.7.10.20.2 Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım uygunluğuna ilişkin sonuç

Standart test yöntemlerinde kullanılan türlerden elde edilen verilerin, tüm türleri (deniz dahil) temsil ettiği varsayılır. Söz konusu senaryo, bir maddenin beslenme yoluyla kuşlar üzerindeki etkileriyle ilgili olduğundan, yalnızca oral maruz kalma kullanan toksisite çalışmaları önemlidir. Beslenme çalışmaları tercih edilir, çünkü bunlar en çok araştırılan maruz kalma yolu ile ilgilidir.

¹² Bazen deniz yırtıcılarının maruz kalmasını modellemek uygun olabilir, bu durumda senaryo bir atık su arıtma aşamasını içermeyebilir.

Oral gavaj çalışmaları, bazı durumlarda çok yüksek veya düşük akut toksisite konusunda bazı kanıtlar sağlayabilir ve bu, gerekçeli bir vaka oluşturulması koşuluyla bir Kanıt Ağırlığı savunmasının bir parçası olarak kullanılabilir. Yumurta daldırma çalışmaları, daha fazla araştırma gerektiren bir etkiye işaret etse de, ilgili değildir.

R.7.10.21 Kuş toksisitesi için bütünlük test stratejisi Amaç

R.7.10.21.1 / Genel ilkeler

Genel olarak, bir test stratejisi yalnızca 1000 ton/yıl veya daha yüksek seviyelerde imal veya tedarik edilen maddeler için geçerlidir (mevcut akut verilere dayalı olarak daha düşük tonajda bir risk tespit edilirse daha fazla araştırma yapılması gerekebilir). Ayrıca, KGD yürütürken kayıt ettirenin maddenin P ve B olduğunu belirlediği, ancak KKDİK Yönetmeliği Ek 13 içerisindeki T kriterinin karşılanıp karşılanmadığı ve T hakkında ilişkin kesin bir sonuca varmak için kuş toksisite testine ihtiyaç duyulup duyulmadığı konusunda kesin bir sonuca varamadığı tüm durumlarda PBT/vPvB değerlendirmesi için ek kuş toksisitesi verilerinin toplanması ve/veya oluşturulması gerekir. Bu yükümlülük ≥ 10 ton/yıl miktarındaki tüm kayıtlar için geçerlidir (daha fazla ayrıntı için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.11).

Genel varsayım, kuş toksisitesi testinin normalde gerekli olmayacağıdır. Aynı zamanda, kuşların karşılaştığı potansiyel riskleri olduğundan az tahmin etmemek için özen gösterilmelidir. Yeni çalışmalar, yalnızca mevcut tüm kanıtların dikkatli bir şekilde değerlendirilmesinin ardından önerilmelidir ve bu nedenle test stratejisinin amacı, yalnızca ilgili bilgilerin toplanmasını sağlamaktır.

R.7.10.21.2 Ön hususlar

Kronik kuş toksisitesi testine duyulan ihtiyaç, açıkça ikincil zehirlenme değerlendirmesiyle bağlantılıdır. Çevresel (veya insan sağlığı) değerlendirmesinin geri kalanından başka eylemlerin ortaya çıkması muhtemelse, kuş testi yapma ihtiyacına ilişkin bir karar ertelenebilir. Örneğin:

- Madde, diğer verilere dayanılarak potansiyel bir PBT veya vPvB maddesiye, kuşlar üzerinde başka testlere gerek yoktur (ilk olarak ilgili PBT test stratejisi izlenmelidir). Bu tür özellikler doğrulanırsa, uzun süreli etkiler öngörülebileceği için daha fazla hayvan testi gereksiz olacaktır.
- Sucul veya karasal ortamlar için riskler başlangıçta belirlenirse, maruz kalma değerlendirmesinin iyileştirilmesi gerekebilir. Bu, iyileştirilmiş risk yönetimi önlemlerinin tavsiyesini içerebilir.
- Kuşlarla yapılan bir test, insan sağlığı değerlendirmesi için önerilen diğer kronik memeli testlerinin sonucunu bekleyebilir (örneğin analog maddelerden elde edilen kanıtlar nedeniyle kuşların daha hassas olabileceğinden şüphelenilmedikçe).

Daha fazla testin bir seçenek olabileceği üç ana durum ayırt edilebilir:

- **Sadece akut kuş toksisitesi verilerinin mevcut olması.** Daha fazla kronik test ihtiyacına ilişkin bir karar, memeli yırtıcıların sonuçlarına kıyasla, bu verilere dayalı bir PNEC kullanarak risk değerlendirmesinin sonucuna bağlı olacaktır.

Örneğin, kuşlar için bir risk belirlenir ancak memeliler için belirlenmezse, kronik bir test $PNEC_{kuş}$ değerinin iyileştirilmesine izin verecektir.

- **Yalnızca düşük kaliteli bir kronik çalışmanın mevcut olması.** Risk sınırda ise (örn. PEC, sonuçta ortaya çıkan PNEC değerinden sadece biraz daha fazla veya azsa), sonuca daha fazla güven sağlamak için yerini alacak bir çalışma gerekli olabilir.
- **Kuş toksisitesi verilerinin mevcut olmaması.** Bunun önemli bir veri boşluğunu temsil edip etmediğine dair bir karar verilmelidir. Mevcut memeli toksisitesi veri setine dayalı bir risk karakterizasyonunun, maddenin çevredeki daha yüksek organizmalar üzerindeki olası risklerine dair bir gösterge vereceği varsayılmaktadır (insan sağlığı için ilgisiz olduğu düşünülen herhangi bir etkinin göz önünde bulundurulmasına dikkat edilmelidir.). Bununla birlikte, kuşlar ve memeliler arasındaki bağıl hassasiyet hakkında bilgi eksikliği göz önüne alındığında, aşağıdaki durumlarda kuş testleri gerekebilir:
 - madde besin zincirlerini kirletme potansiyeline sahiptir - örneğin, kolay biyobozunur olmadığı ve birikimli olduğu için (örn. 100'ün üzerinde balık BCF değeri veya düşük metabolik hız, yağ dokularına yüksek afinite, dokularda plato konsantrasyonuna ulaşmak için uzun süre veya yavaş eliminasyon hızı gibi memeli testlerinden diğer biyobirikim göstergeleri) ve
 - memeli tekrarlı doz veya üreme sistemi testlerinde toksisite kanıtı vardır. *Yalnızca* toksisite testi tetikleyicisi olarak, $PNEC_{memeli}$ değerinin *tarama* $PNEC_{kuş}$ değerini elde etmek için 10 kat azaltılması önerilir: sonraki risk karakterizasyon oranı 1'in üzerindeyse ve maruz kalma değerlendirmesi daha fazla düzeltilemezse, o zaman kuş toksisitesi verileri aranmalıdır (bkz. Bölüm [R.7.10.21.3](#)).

Yeni bir toksisite testi yapılmadan önce tüm durumlarda, ilk olarak PEC değerini iyileştirmek için çaba gösterilmelidir (risk yönetim önlemlerinin dikkate alınması dahil) çünkü maruz kalma senaryosu bir dizi koruyucu varsayıma dayanmaktadır. Kuş testi gerekiyorsa, sınır testi uygun olabilir.

R.7.10.21.3 Kuş toksisitesi için test stratejisi

Bu, kronik kuş toksisitesinin ele alınması gerektiğini varsayar. Uygun bir analog veri yoksa (ki bu genellikle böyle olacaktır) veya çapraz okumanın geçerliliği konusunda bazı şüpheler varsa, maddenin kendisi üzerinde daha fazla test yapılması gerekir. Bu, maddenin, kuş toksisitesi verilerinin sınırlı olduğu daha büyük bir kategorinin parçası olması durumunda da geçerli olabilir (bu durumda, tek bir (veya birkaç) teste dayalı olarak birkaç ilgili maddeye ilişkin veri sağlamak için bir strateji geliştirmek mümkün olabilir. Memeliler ve balıklar için en toksik olduğu görülen madde, ilk etapta kuşlarla daha ileri testler için seçilmelidir).

Güvenilir bir kronik NOEC sağlamak için kuş üreme sistemi testi (OECD Test Rehberi 206) yapılmalıdır.

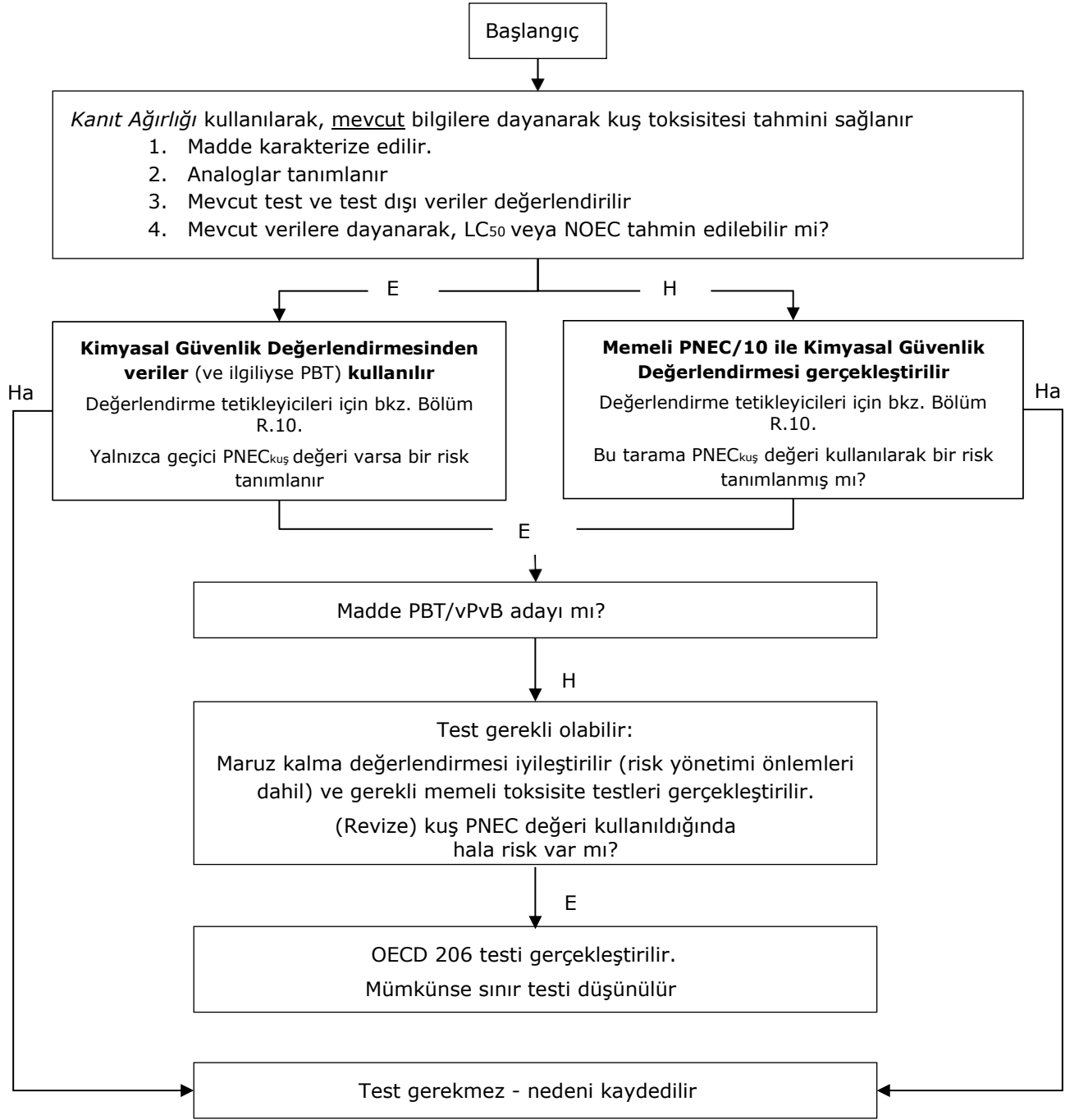
Sınır testi yapmak mümkün olabilir (en yüksek PEC değerinin 30 ile çarpılmasına dayalı olarak): Bu sınır konsantrasyonunda hiçbir etki gözlenmezse, daha fazla araştırmaya gerek yoktur. Bu yaklaşımın, tam bir teste kıyasla herhangi bir dezavantaj sunup sunmayacağına dair bir görüşe ihtiyaç duyulacaktır (örneğin, madde, doz cevabı hakkında daha fazla bilgiye ihtiyaç duyulduğunda bir kategorinin parçası olabilir). Bu teste istisnalar aşağıdaki gibi olabilir:

- Bazı durumlarda, kuş toksisitesinin bir ön belirtisini sağlamak için akut bir test yapmak uygun olabilir. Örneğin, birkaç ilgili maddenin kuş toksisite verisi yoksa ve sadece biri üreme testine tabi olduğunda çapraz okuma savunmasının uygunluğunu test etmek için bazı karşılaştırmalı verilere ihtiyaç duyuluyorsa bu yararlı olabilir. Tam bir doz-cevap ilişkisi kurmak gerekli olmadığından, bu ilk durumda bir sınır testi olabilir. Geçici bir $PNEC_{oral}$ değeri, bir beslenme testinin (OECD Test Rehberi 205) sonucundan elde edilebilir, bu durumda sınır, 5,000 mg/kg beslenme veya en yüksek PEC çarpı 3,000 (hangisi en düşükse) olabilir. Bununla birlikte, akut etkilerden kronik etkilere ekstrapolasyondaki belirsizlikler göz önüne alındığında, genellikle kronik bir test tercih edilecektir.
- Madde, memelilerde yüksek etki gücüne sahip endokrin bozucu bir etkiyi açıkça gösteriyorsa (yani, diğer sonlanma noktaları için eşiğin çok altındaki dozlarda etki gösteriyorsa), bunun yerine çok nesilli bir test yapmak uygun olabilir. Bu tür testler için protokoller uluslararası olarak kabul görmediğinden, bunların bir çalışmaya başlamadan önce ilgili yasal kurumlarla görüşülmesi gerekecektir. Buna ilave olarak, bu tür maddelere izin verilmesi muhtemeldir ve bu nedenle öldürme veya daha fazla omurgalı gerekçelendirilemeyebilir.

Bu planın saha verilerini toplamak için gereklilikleri içermediğine dikkat edilmelidir. Bu yalnızca istisnai durumlarda düşünülmelidir.

BTS, [Şekil R.7.10—2](#)'de bir akış şeması halinde sunulmuştur.

Şekil R.7.10—2 Kuş toksisitesi için BTS¹³



¹³ Şekilde, Bölüm R10'a yapılan atıf, ikincil zehirlenme hakkındaki Bölüm [R.7.10.8](#) 'e karşılık gelmektedir

R.7.10.22 Kuş toksisitesi için referanslar

BCPC (İngiltere Ekin Koruma Konseyi) (2003) Pestisit El Kitabı: Dünya Çapında Bir Derleme, On Üçüncü Baskı. Tomlin CDS (Ed), Alton: İngiltere Ekin Koruma Konseyi. ISBN 1 901396 13 4.

Benfenati E (2007) Quantitative Structure-Activity Relationships (QSAR) for Pesticide Regulatory Purposes (Pestisit Düzenleme Amaçlı Nicel Yapı-Aktivite İlişkileri (QSAR)), 1. Baskı, Elsevier, Amsterdam, Hollanda.

Bennett RS, Dewhurst IC, Fairbrother A, Hart ADM, Hooper MJ, Leopold A, Mineau P, Mortensen SR, Shore RF ve Springer TA (2005) A new interpretation of avian and mammalian reproduction toxicity test data in ecological risk assessment (Ekolojik risk değerlendirmesinde kuş ve memeli üreme sistemi toksisitesi testi verilerinin yeni bir yorumu). *Ecotoxicology* 14:801-16.

Bennett RS ve Etterson MA (2006) Estimating pesticide effects on fecundity rates of wild birds using current laboratory reproduction tests (Mevcut laboratuvar üreme testleri kullanılarak yabancı kuşların doğurganlık oranları üzerindeki pestisit etkilerinin tahmini). *Human Ecol Risk Assess* 12:762- 81.

CCME (1998) Sucul Biyota Tüketen Vahşi Yaşamın Korunmasına Yönelik Rehber Doku Kalıntısı Türetilmesine Yönelik Protokol. Kanada Çevre Bakanları Konseyi (CCME), Winnipeg, Manitoba, Kanada.

EC [Avrupa Komisyonu] (2002a) Taslak Çalışma Belgesi: Konsey Direktifi 91/414/EEC Kapsamında Kuşlar ve Memeliler için Risk Değerlendirmesine İlişkin Rehber Doküman, SANCO/4145/2000. Avrupa Komisyonu, 25 Eylül 2002.

EC [Avrupa Komisyonu] (2002b) Taslak Çalışma Belgesi: Konsey Direktifi 91/414/EEC kapsamında Karasal Ekotoksikoloji Rehber Dokümanı, SANCO/10329/2002 rev 2 nihai. Avrupa Komisyonu, 17 Ekim 2002.

EPPO [Avrupa ve Akdeniz Bitki Koruma Örgütü] (2003) EPPO Standards - Environmental risk assessment scheme for plant protection products (EPPO Standartları - Bitki koruma ürünleri için çevresel risk değerlendirme planı). *EPPO Bulletin* 33:147-238.

Everts JW, Eys Y, Ruys M, Pijnenburg J, Visser H ve Luttik R (1993) Biomagnification and environmental quality criteria: a physiological approach (Biyomagnifikasyon ve çevresel kalite kriterleri: fizyolojik bir yaklaşım). *ICES J Mar Sci* 50:333-5.

Hart A, Balluff D, Barfknecht R, Chapman PF, Hawkes T, Joermann G, Leopold A ve Luttik R (2001) Avian effects assessment: A framework for contaminants studies (Kuş etkileri değerlendirmesi: Kirletici çalışmaları için bir çerçeve).

Pensacola, FL. Çevresel Toksikoloji ve Kimya Derneği (SETAC).

Mineau P (2005) A review and analysis of study endpoints relevant to the assessment of "long-term" pesticide toxicity in avian and mammalian wildlife (Kuş ve memeli yaban hayatında "uzun süreli" pestisit toksisitesinin değerlendirilmesiyle ilgili çalışma sonlanma noktalarının bir incelemesi ve analizi). *Ecotoxicology* 14:775- 800.

OECD (1984a) Kuş Beslenme Toksikitesi Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Kimyasalların Test Edilmesine İlişkin Rehber No. 205, Paris, Fransa.

OECD (1984b) Kuş Üreme Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Kimyasalların Test Edilmesine İlişkin Rehber No. 206, Paris, Fransa.

OECD (1996) Test ve değerlendirme serisi, No. 5. SETAC/OECD Kuş Toksikitesi Testi Çalıştayı Raporu. Çevre Sağlığı ve Güvenliği Yayınları. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Paris, Fransa.

OECD (2002) Yeni rehber 223: Kuş Akut Oral Toksikitesi Testi için öneri (A&B). Ekim 2002. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Paris, Fransa.

OECD (2003) Test ve değerlendirme serisi, No. XX. Kuş Kaçınma Davranışının Test Edilmesine Yönelik Taslak Rehber Doküman (tamamlanacak).

OECD (2006a) Test ve değerlendirme serisi, No. XX. Kuş İki Nesil Toksikite Testi için Ayrıntılı İnceleme Belgesi. Çevre Müdürlüğü. Nihai Taslak Haziran 2006. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD), Paris, Fransa.

OECD (2006b) WNT 18 INF 3 kuş toksisitesi testi hakkında çalışmaların durumu. 16-18 Mayıs 2006 Test Rehberleri Programı Ulusal Koordinatör Çalışma Grubu toplantısı için sunulan bildiri.

Sell C (tarihsiz) Predicting the Reproductive Toxicity of Pesticides to Birds: Can Avian Acute Oral or Dietary Studies, or Mammalian Reproduction Studies be Used in Lieu of Specific Avian Reproduction Studies (Pestisitlerin Kuşlarda Üreme Toksikitesinin Tahmini: Kuş Akut Oral veya Beslenme Çalışmaları veya Memeli Üreme Çalışmaları Özel Kuş Üreme Çalışmaları Yerine Kullanılabilir mi?) Yüksek Lisans Ekoloji ve Çevre Yönetimi Tezi. York Üniversitesi, Ekotoksikoloji Bilim Dalı ile birlikte, Pestisit Güvenlik Müdürlüğü, Birleşik Krallık.

SETAC (1995) Pestisitlerin Çevresel Davranış ve Ekotoksitesini Değerlendirme Prosedürleri. Çevresel Toksikoloji ve Kimya Derneği, ISBN 90-5607-002-9.

SETAC (2005) Pestisitlerin Sahada Etkileri. AB ve SETAC Avrupa Çalıştayı (Ekim 2003, Le Croisic, Fransa), Çevresel Toksikoloji ve Kimya Derneği, Berlin, Almanya.

ABD-EPA (1982a) OPP 71-1 Kuş Tek Doz LD50 Testi (Pestisit Değerlendirme Rehberi). Federal Böcek, Mantar ve Kemirgen İlaçları Yasası (FIFRA) Alt Bölüm E - Zararlılık Değerlendirmesi; Yaban Hayat ve Sucul Organizmalar. EPA raporu 540/09-82-024.

ABD-EPA (1982b) OPP 71-2 Kuş Beslenme LC50 Testi (Pestisit Değerlendirme Rehberi). Federal Böcek, Mantar ve Kemirgen İlaçları Yasası (FIFRA) Alt Bölüm E - Zararlılık Değerlendirmesi; Yaban Hayat ve Sucul Organizmalar. EPA raporu 540/09-82-024.

ABD-EPA (1982c) OPP 71-4 Kuş Üreme Testi (Pestisit Değerlendirme Rehberi). Federal Böcek, Mantar ve Kemirgen İlaçları Yasası (FIFRA) Alt Bölüm E - Zararlılık Değerlendirmesi; Yaban Hayat ve Sucul Organizmalar. EPA raporu 540/09-82-024.

ABD-EPA (1996a) Ekolojik etkiler testi rehberi: Kuş akut oral toksisite testi. OPPTS 850.2100. ABD Çevre Koruma Ajansı. Erişim adresi: http://www.epa.gov/opptsfrs/publications/OPPTS_Harmonised/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines/Drafts/850-2100.pdf.

ABD-EPA (1996b) Ekolojik etkiler testi rehberi: Kuş beslenme toksisitesi testi. OPPTS 850.2200. ABD Çevre Koruma Ajansı. Erişim adresi: http://www.epa.gov/opptsfrs/publications/OPPTS_Harmonised/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines/Drafts/850-2200.pdf.

ABD-EPA (1996c) Ekolojik etkiler testi rehberi: Kuş üreme testi. OPPTS 850.2300. ABD Çevre Koruma Ajansı. Erişim adresi: http://www.epa.gov/opptsfrs/publications/OPPTS_Harmonised/850_Ecological_Effects_Test_Guidelines/Drafts/850-2300.pdf.

ABD-EPA (2003) İki nesil kuş toksisite testi için revize taslak ayrıntılı inceleme belgesi. EPA Sözleşme numarası 68-W-01-023, Çalışma 2-16 (23 Nisan 2003).

Bölüm R.7.10 Ekleri

Ek R.7.10-1	Veritabanları
Ek R.7.10-2	Sucul biyobirikim için <i>in vitro</i> yöntemler
Ek R.7.10-3	Zor maddeler ile ilgili hususlar
Ek R.7.10-4	(Sürekli akış) balık biyobirikim çalışmasının veri güvenilirliği için kalite kriterleri

Ek R.7.10-1

Veritabanları

Çeşitli BCF veritabanları mevcuttur ve en yaygın kullanılanlar bu ekte açıklanmıştır (ilave ayrıntılar için bkz. Weisbrod ve ark. (2006)). Veritabanlarında kaydedilen önceki çalışmaların çoğunda, giderek daha iyi anlaşılabilir bir dizi potansiyel ciddi kusur bulunmaktadır. Örneğin, metodoloji her zaman geçerli OECD 305 test rehberi ile tutarlı olmayabilir. Bu nedenle, sorgulanan veritabanı versiyonunun kaydedilmesi önemlidir, çünkü içerik zamanla değişebilir. Örneğin, Syracuse veritabanının kalite kontrolünün ardından, bir dizi değer değiştirilmiş veya kaldırılmıştır. Bazı durumlarda, veri kalitesi kontrol edilmemiş olabilir ve bu durumlarda kalitenin doğrulanabilmesi için orijinal kaynak da aranmalıdır.

AQUIRE / ECOTOX veritabanı

Çok iyi bilinen ve yaygın olarak kullanılan bir veritabanı, Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı'nın ECOTOX Veritabanının (ABD-EPA ECOTOX Veritabanı) bir parçası olan Sucul Toksikite Bilgilerinin Edinilmesi (AQUIRE) (ABD-EPA, 1995) sistemidir. 2005 yılında 6.000 sucul ve karasal tür ve 10.000 kimyasal kapsayan 480.000'den fazla test kaydı dahil edilmiştir. ECOTOX verilerinin birincil kaynağı, açık literatürün kapsamlı taramaları yoluyla belirlenen test sonuçlarıyla birlikte uzman incelemesinden geçmiş literatürdür. Biyokonsantrasyon faktörü alt dosyası, 1100'den fazla yayından toplanan ve yaklaşık 700 farklı kimyasal kapsayan 13356 sucul kimyasal kaydı ve 19 karasal kimyasal kaydı içerir. Çevrimiçi veritabanının kullanımı ücretsizdir ve İnternet üzerinden <http://cfpub.epa.gov/ecotox/> adresinden erişilebilir.

Japonya METI - NITE Veritabanı

METI veritabanı, Japon Ulusal Teknoloji ve Değerlendirme Enstitüsü (NITE) tarafından toplanan yaklaşık 800 BCF değerinden oluşan bir koleksiyondur. Veritabanı, OECD Test Rehberi 305C yöntemine (eski veriler) ve OECD Test Rehberinin daha yeni versiyonuna göre elde edilen biyokonsantrasyon değerlerini toplar. Test balığı (sazan), sürekli akış koşulları altında su içinde test kimyasal maddesinin iki konsantrasyonuna maruz bırakılır. Tüm testler İyi Laboratuvar Uygulamaları (GLP) laboratuvarları tarafından yürütülür ve test sonuçları 3 bakanlıktan oluşan ortak konsey tarafından incelenir (METI: Ekonomi, Ticaret ve Sanayi Bakanlığı; MHLW: Sağlık, Çalışma ve Refah Bakanlığı; MEB: Çevre Bakanlığı). Yaklaşık 800 mevcut kimyasala ilişkin BCF verileri, NITE web sitesinin (<http://www.nite.go.jp/en/chem/index.html>) Kimyasal Risk Bilgi Platformunda (CHRIP) mevcuttur. Test türleri (Sazan, *Cyprinus carpio*) için iki farklı maruz kalma konsantrasyonunda maksimum ve minimum BCF değerleri raporlanmıştır. Maruz kalma süresi ve maruz kalma yöntemi (genellikle sürekli akış) ve lipid içeriği genellikle sağlanır ve bazen analitik yöntem (örn. gaz kromatografisi) dahil edilir. Ancak, daha önceki çalışmaların mevcut OECD Test Rehberi 305 yöntemine uygun olarak yürütülmediğinin altı çizilmelidir. Bazıları yüksek seviyelerde çözücü/dağıtıcılar kullanmıştır (güvenilmez BCF değerleri verebilir) ve diğerleri, test maddesinin suda çözünürlük sınırının çok üzerinde yürütülmüştür (BCF değerinin olduğundan az tahmin edilmesine neden olabilir).

ABD Ulusal Tıp Kütüphanesi Zararlı Maddeler Veritabanı

Zararlı Maddeler Veritabanı (HSDB), Ulusal Tıp Kütüphanesi'nin (NLM) Toksikoloji Veri Ağı (TOXNET®) üzerinde bir toksikoloji veritabanıdır. Zararlı Maddeler Veritabanı, potansiyel zararlı kimyasalların toksikolojisine odaklanır. 4800'den fazla kimyasal kaydı içerir. Tüm veriler, uzman toksikologlar ve diğer bilim adamlarından oluşan bir Bilimsel İnceleme Paneli tarafından referans alınır ve uzman incelemesinden geçirilir (ABD NLM 1999). Veriler referans alınan birincil kaynak olmakla birlikte, BCF değerini ölçmek için kullanılan deneylerin ayrıntıları hakkında çok az bilgi vardır. Zararlı Maddeler Veritabanına TOXNET aracılığıyla ücretsiz olarak <http://toxnet.nlm.nih.gov> adresinden erişilebilir.

Çevresel Davranış Veritabanı

Çevresel Davranış Veritabanı (EFDB) isimli veritabanı (Howard ve ark., 1982, Howard ve ark., 1986), ABD-EPA sponsorluğunda Syracuse Research Corporation (SRC) tarafından geliştirilmiştir. Bu bilgisayarlı veritabanı, birbiriyle bağlantılı birkaç dosya, DATALOG, CHEMFATE, BIOLOG ve BIODEG içerir. DATALOG en büyük dosyadır ve literatürden türetilen 16.000'den fazla kimyasala ilişkin 325.000'den fazla kayıt içerir. Biyobirikim ve biyokonsantrasyon bilgileri veri tabanındaki kimyasalların sadece küçük bir kısmı için mevcuttur. Veritabanı, söz konusu maddenin bir biyokonsantrasyon testinde test edilmesine dayalı olarak deneysel olarak türetilen veya bu tür testler olmadan matematiksel olarak türetilen BCF değerleri arasında ayırım yapmaz. Bildirilen çok sayıda BCF verisi hesaplanan değerlere dayanmaktadır. Veritabanına internet üzerinden <http://www.srcinc.com/what-we-do/efdb.aspx> adresinden erişilebilir ve ücretsizdir.

Syracuse BCFWIN Veritabanı ve BCFBAF Veritabanı

Syracuse BCFWIN veritabanı, Meylan ve ark. tarafından BCFWIN programını (Syracuse Research Corporation, Biyokonsantrasyon Faktörü Programı BCFWIN) desteklemek için geliştirilmiştir. Veritabanının geliştirilmesi, Meylan ve ark. (1999) çalışmasında açıklanmaktadır. Veritabanında yakalanan deneysel ayrıntılar arasında balık türleri, test bileşiğinin maruz kalma konsantrasyonu, test organizmasının lipid yüzdesi, test yöntemi (dengede maruz kalmaya karşılık kinetik yöntem), denge yöntemi durumunda test süresi ve test bileşiği için analiz edilen doku (tüm vücut, kemiksiz kas veya yenilebilir doku) bulunmaktadır. Kinetik yöntemle elde edilen veriler, özellikle standart testlerde dengeye ulaşma olasılığı daha düşük olan yüksek log K_{ow} değerlerine sahip bileşikler için denge yönteminden elde edilen verilere tercih edilmiştir. BCF verilerinin denge yönteminden türetildiği ve özellikle yüksek log K_{ow} değerlerine sahip kimyasallar için kararlı hale ulaşamadığında, seçilen veriler en uzun maruz kalma sürelerine sahip değerlerin aralığının ortasındadır. Toksik etki potansiyelini en aza indirmek ve sudaki toplam madde konsantrasyonunun biyoyararlanımlı orana eşdeğer olma olasılığını en üst düzeye çıkarmak için test bileşiğinin düşük maruz kalma konsantrasyonları tercih edilmiştir. Ilık su balıkları soğuk su balıklarına tercih edilmiştir çünkü ılık su türleri için daha fazla veri mevcuttur. Balık türleri yassı kafalı golyan balığı > japon (akvaryum) balığı > güneş balığı > sazan > deniz türleri sırasında tercih edilmiştir (bu liste her türü kapsamamaktadır). Yassı kafalı golyan balığı verileri genellikle diğer türlerden alınan verilere seçilmiştir çünkü bu veriler çok sayıda kimyasal için mevcuttur ve log K_{ow} temelli BCF tahmin yöntemlerini geliştirmek için kullanılmışlardır. Veritabanı 694 ayrı bileşik içerir. BCFWIN veri tabanı hidrokarbon tahminini iyileştirmek için güncellenmiştir (Stewart ve ark., 2005). Mevcut BCFWIN hidrokarbon veritabanı, 83 hidrokarbonla ilgili BCF verileri içerir.

BCFWIN™ modeli artık güncellenmiş ve BCFBAF™ modeli ile değiştirilmiştir. Model, ABD EPA web sitesinde <https://www.epa.gov/tsca-screening-tools/epi-suitetm-estimation-program-interface> adresinden edinilebilir.

BCFBAF™, iki farklı yöntem kullanarak balık biyokonsantrasyon faktörlerini ve logaritmasını tahmin eder. Birincisi, log KOW artı herhangi bir uygulanabilir düzeltme faktörüne dayalı geleneksel regresyondur ve WSKOWWIN™ yöntemine benzerdir. İkincisi, mekanik ilkelerden BCF değerini hesaplayan Arnot-Gobas yöntemidir. BCFBAF ayrıca balıklarda görünen metabolizma yarılanma ömrünün tahminini içerir ve üç trofik seviye için BCF ve BAF tahmin eder (Arnot ve Gobas, 2003).

Fiziko-kimyasal Özellikler ve Çevresel Davranış El Kitabı

CRC tarafından yayınlanan Fizikokimyasal Özellikler ve Çevresel Davranış El Kitabı (Mackay ve ark., 2000), her biri bir dizi ilgili organik kimyasal maddeyi kapsayan birkaç ciltten oluşmaktadır. Kitap ve CD ROM biçiminde mevcuttur. Kitapta sağlanan veri tabanı, biyokonsantrasyon faktörleri, oktanol-su dağılım katsayısı ve çevresel davranış değerlendirmeleriyle ilgili diğer bazı fiziksel kimyasal özellikler hakkında veriler içerir. BCF verileriyle ilgili ayrıntılar alınmamıştır.

Kanada veritabanı

Environment Canada, Kanada Çevre Koruma Yasası 1999 (Kanada Hükümeti, 1999) tarafından ilan edildiği gibi Kanada Yerli Maddeler Listesi'nde (DSL) yer alan yaklaşık 11700 organik kimyasalın biyobirikim potansiyelini değerlendirmek için biyokonsantrasyon faktörü (BCF) ve biyobirikim faktörü (BAF) değerlerinin deneysel bir veri tabanını geliştirmiştir. Bu veriler, yaklaşık Ekim 1999'dan Ekim 2005'e kadar, memeli olmayan sucul organizmalar, yani algler, omurgasızlar ve balıklar için toplanmıştır. BCF verileri bir Kanada dahili veri tabanından, uzman incelemesinden geçmiş literatürden ve yukarıda bahsedilen veri tabanlarından derlenmiştir. Beslenme yolunu kullanan besleme çalışmaları veri derlemesine dahil edilmemiştir. Değerler yalnızca test kimyasalı ve test organizması açıkça tanımlanabiliyorsa derlenmiştir. BCF verileri, standart test protokollerine (örneğin OECD Test Rehberi 305E) dayanılarak geliştirilmiş bir dizi kritere göre kalite açısından değerlendirilmiştir. Veritabanı, sırasıyla yaklaşık 800 ve 110 kimyasal için yaklaşık 5200 BCF ve 1300 BAF değerini içermektedir. Veri kalitesi kriterlerine ve yöntemlerine dayalı olarak veriler için güven değerlendirmesi dahildir. Veritabanı, Environment Canada-Mevcut Maddeler şubesi aracılığıyla talep üzerine temin edilebilir.

CEFIC - LRI biyo-konsantrasyon faktörü (BCF) Altın Standart Veritabanı

BCF Altın Standart Veritabanı oluşturmak için CEFIC-LRI (www.cefic-lri.org/) tarafından bir araştırma projesi finanse edilmiştir. Uzman denetiminden geçmiş yüksek kaliteli BCF değerleri içeren bir veri tabanının geliştirilmesi, alternatif testlerin gelecekteki geliştirilmesi için değerli bir kaynak olarak kabul edilmektedir. Ayrıca, yeni veri noktalarının eklenebileceği böyle bir veri tabanına sahip olmak, alternatif BCF çalışmalarının doğrulanması sürecini geliştirme ve başlatma potansiyelini önemli ölçüde kolaylaştıracaktır. Örneğin, veritabanı alternatifler için bir kimyasal doğrulama seti görevi görebilir. Proje kalite kriterleri geliştirecek, balık biyokonsantrasyon verileri toplayacak ve eleştirel bir şekilde gözden geçirecektir. İşin tekrarlanmasını önlemek için diğer ilgili projeler, HESI-ILSI biyobirikim grubu, SETAC danışma grubu ve diğer ilgili taraflarla yakın temaslar kurulmaktadır.

Ek R.7.10-2 Sucul biyobirikim için *in vitro* yöntemler

[Tablo R.7.10—6](#) , balık karaciğeri S9 oranlarının ve dondurularak korunan birincil hepatositlerin (ve uygulanabilir ekstrapolasyon modellerinin) kullanımına yönelik standartlaştırılmış *in vitro* yöntemler ile, bu yöntemleri değerlendiren ve bunları biyobirikim üzerindeki biyodönüşüm etkilerini tahmin etmek için kullanan son yayınları listeler.

[Tablo R.7.10—7](#) balıklarda kimyasal biyodönüşümü incelemek için kullanılan diğer *in vitro* test sistemlerinin bir özetini listelemektedir.

Bu yöntemlerin kullanımına ilişkin daha fazla ayrıntı Bölüm [R.7.10.3.1](#)'de sağlanmıştır.

Tablo R.7.10—6 Balık birincil hepatositleri ve S9 oranları (standartlaştırılmış yöntemler) ile yöntemlerin ve çalışmaların özeti.

Referans	Test Sistemi / Yöntemi	Tür	Değerlendirilen Kimyasallar	Notlar
Segner ve Cravedi, 2001	Balık birincil hepatositleri	Teleost hakkında genel tartışma; gökkuşuğu alabalığına odaklanma		Balık hepatositlerinin birincil kültürlerinde metabolik aktivite
Han ve ark., 2007	Balık birincil hepatositleri (taze)	Gökkuşuğu alabalığı	Atrazin Molinat 4,4-bis(dimetilamino)-benzofenon 4-nonilfenol 2,4-di-tert-butilfenol Trifluralin Benzo(a)piren	
Cowan-Ellsberry ve ark., 2008	Balık birincil hepatositleri (taze)	Sazan	Oktaetilen glikol monoheksadesil eter sodyum 2-fenil dodekan p-sülfonik asit	
Cowan-Ellsberry ve ark., 2008	Balık karaciğeri oranları (S9)	Gökkuşuğu alabalığı	Fluroksipir metilheptil ester Haloksifop metil ester Zoksamid Klorpirifos	
Dyer ve ark., 2008	Balık karaciğeri mikozomları ve oranları (S9)	Gökkuşuğu alabalığı Sazan	Doğrusal alkilbenzen sülfonat (C12-LAS) Alkol etoksilat (C13EO8)	
Dyer ve ark., 2008	Balık birincil hepatositleri (taze)	Sazan	Doğrusal alkilbenzen sülfonat (C12-LAS) Alkol etoksilat (C13EO8)	
Han ve ark., 2008	Balık birincil hepatositleri (taze)	Gökkuşuğu alabalığı	Molinat 4,4bis(dimetilamino) - benzofenon 4-nonilfenol 2,4-di-tert-butilfenol Benzo(a)piren	

Referans	Test Sistemi / Yöntemi	Tür	Değerlendirilen Kimyasallar	Notlar
Han ve ark., 2009	Balık karaciğeri mikozomları ve oranları (S9)	Gökkuşluğu alabalığı	Molinat 4,4bis(dimetilamino) - benzofenon 4-nonilfenol 2,4-di-tert-butilfenol Benzo(a)piren	
Gomez ve ark., 2010	Balık karaciğer ve solungaç oranları (S9)	Gökkuşluğu alabalığı Kanal yayın balığı	İbuprofen Noretindron Propranolol	
Mingoia ve ark., 2010	Balık birincil hepatositleri (dondurularak korunmuş)	Gökkuşluğu alabalığı	Molinat Michler ketonu 4-nonilfenol 2,4-ditert-butilfenol Benzo(a)piren Piren	
Johanning ve ark., 2012	Balık karaciğeri oranları (S9)	Gökkuşluğu alabalığı		Ayrıntılı izolasyon ve inkübasyon metodolojilerinin Güncel Protokoller yayını
Fay ve ark., 2014a	Balık birincil hepatositleri (dondurularak korunmuş)	Gökkuşluğu alabalığı		Cinsiyet etkisi ve dondurarak koruma metodolojisinin Faz I ve Faz II aktivitesi üzerindeki etkisini araştıran çalışma; sonuçlar, erkek ve dişi alabalığın yavru hepatositlerinin birbirinin yerine kullanılabileceğini göstermiştir. Dondurarak koruma yöntemi optimize edilmiştir.
Nichols ve ark., 2013a	IVIVE metodolojisi	Gökkuşluğu alabalığı		<i>In vivo</i> BCF çalışmaları için kullanılan daha küçük boyutlu balıklar için fizyolojik parametreleri ele almak amacıyla ilk IVIVE modelinin revizyonu
Nichols ve ark., 2013b	Balık izole yayılmış karaciğer ve oranları (S9)	Gökkuşluğu alabalığı	6 PAH	
Fay ve ark., 2014b	Balık birincil hepatositleri (dondurularak korunmuş)	Gökkuşluğu alabalığı	Benzo[a]piren 4-nonilfenol Di-tert-butil fenol Fention Metoksiklor o-terfenil	

Referans	Test Sistemi / Yöntemi	Tür	Değerlendirilen Kimyasallar	Notlar
Laue ve ark., 2014	Balık karaciğeri oranları (S9)	Gökkuşuğu alabalığı	Pentaklorobenzen Misk ksilen İzolongifolanon Metil sedril keton Opalal Peonil Iso E Super δ-damaskon sikloheksil salisilat Agrumex	
Fay ve ark., 2015a	Balık birincil hepatositleri (dondurularak korunmuş)	Gökkuşuğu alabalığı		Ayrıntılı izolasyon ve inkübasyon metodolojilerinin Güncel Protokoller yayını
OECD Projesi 3.13 (Embry ve ark., 2015; Fay ve ark., 2015b)	Balık karaciğeri oranları (S9) ve birincil hepatositler (dondurularak korunmuş)	Gökkuşuğu alabalığı	Piren 4- <i>n</i> -nonilfenol Fention Sikloheksil salisilat Deltamethrin Metoksiklor	Balık <i>in vitro</i> metabolizması için iki OECD test rehberinin geliştirilmesini desteklemek amacıyla 5 laboratuvarı içeren çok laboratuvarlı halka araştırması

Tablo R.7.10—7 Çeşitli test sistemlerinde *in vitro* çalışmaların özeti

Referans	Test Sistemleri	Tür	Değerlendirilen Kimyasallar	Notlar
Förlin ve Andersson, 1981	İzole yayılmış balık karaciğeri	Gökkuşuğu alabalığı	Paranitroanizol	Clophen A50 uygulanmış balıklar ve uygulanmamış balıklar arasında paranitroanizol metabolizması üzerinde farklar incelenmiştir
Andersson ve ark., 1983	İzole yayılmış balık karaciğeri	Gökkuşuğu alabalığı	7-etoksikumarin	Clophen A50 veya BNF uygulanmış balıklar ve uygulanmamış balıklar arasında 7-etoksikumarin metabolizması üzerinde farklar incelenmiştir
Smolarek ve ark, 1987		Balık hücresi hatları	benzo[a]piren ve 7,12-dimetilbenz[a]antrasen	
Kane ve Thohan, 1996	Balık karaciğeri kesitleri	Gökkuşuğu alabalığı	Karaciğer kesitleri hazırlamak ve biyodönüşümü incelemek için metodolojinin açıklaması	
Wood ve Pärt, 1997	Balık solungacı epitel hücreleri	Gökkuşuğu alabalığı	Solungaç epitel hücreleri için birincil kültür yönteminin açıklaması	

Referans	Test Sistemleri	Tür	Değerlendirilen Kimyasallar	Notlar
Kleinow ve ark., 1998	İzole yayılmış balık bağırsağı	Kanal yayın balığı	Benzo(a)piren	BNF ile indüklenen balıklarda metabolizma incelenmiştir
Cravedi ve ark., 1998	Balık karaciğeri kesitleri	Gökkuşuğu alabalığı	Ksenobiyotiklerin biyodönüşüm kapasitesini değerlendirmek için 7-etoksikumarin (7- EC) ve testosteronun incelenen metabolizması.	
Cravedi ve ark., 1999	Balık birincil hepatositleri (taze)	Gökkuşuğu alabalığı	Pentaklorofenol Anilin Bifenil	
Cravedi ve ark., 2001	Balık birincil hepatositleri (taze)	Gökkuşuğu alabalığı	2,4-dikloroanilin Prokloraz Nonilfenol dietoksilat	<i>İn vivo</i> metabolizma çalışması paralel olarak gerçekleştirilmiştir
Walker ve ark., 2007	Balık solungacı epitel hücreleri	Gökkuşuğu alabalığı	Kültür koşullarının optimizasyonu (Wood ve Pärt, 1997 yönteminden); metale maruz kalmaya cevap olarak Faz II enzimleri incelenmiştir	
Kawano ve ark., 2011	Balık bağırsağı epitel hücre hattı (RTgut-GC)	Gökkuşuğu alabalığı	Hücre hattı izolasyon metodolojisinin açıklaması	
Baron ve ark., 2012	Balık karaciğeri sferoidleri	Gökkuşuğu alabalığı	İzolasyon yöntemini açıklayan ilk yayın	
Schultz ve Hayton, 1999	Balık karaciğeri oranları (S10)	Mavi solungaçlı güneş balığı Gökkuşuğu alabalığı Kanal yayın balığı	Trifluralin	Türler arası ölçeklendirmeyi araştırmak için ilk çalışma
Barron ve ark., 1999	Balık solungaç ve karaciğer mikrozoamları	Gökkuşuğu alabalığı	4-nitrofenol	Çalışma, bütün balık homojenatlarında ve farklı doku hazırlamalarında karboksilesteraz aktivitesini değerlendirmiştir.
Kolanczyk ve ark., 1999	Balık karaciğeri mikrozoamları	Gökkuşuğu alabalığı	4-metoksifenol	
James ve ark., 2001	İzole yayılmış balık bağırsağı	Kanal yayın balığı	3-hidroksibenzo(a)piren	
Carlsson ve Pärt, 2001	Solungaç epiteli	Gökkuşuğu alabalığı		
James ve ark., 2004	İzole yayılmış balık karaciğeri	Kanal yayın balığı	Benzo(a)piren-7,8-dihidrodiol	Karaciğeri izole etmek için 3-MC ile indüklenmiş balıklar kullanılmıştır; poliklorobifenilol varlığında benzo(a)piren-7,8-dihidrodiol toksisitesi incelenmiştir

Referans	Test Sistemleri	Tür	Değerlendirilen Kimyasallar	Notlar
Doi ve ark., 2006	İzole yayılmış balık bağırsağı	Kanal yayın balığı	3,3',4,4'-tetraklorobifenil (CB 77)	BNF ile indüklenen balıklarda metabolizma incelenmiştir
Dyer ve ark., 2008	Balık karaciğeri hücre hattı (PLHC-1)	Çöl sivrisinek balığı	Doğrusal alkilbenzen sülfonat (C12-LAS) Alkol etoksilat (C13E08)	
Lam J, 2011	Enterositler	Gökkuşluğu alabalığı	Ticari kimyasallar	
Stadnika-Michalak ve ark., 2014a	Balık solungacı epitel hücre hattı (RTgill-W1)	Gökkuşluğu alabalığı	İmidaklopid Dimetoat Karbendazim Malation Siprokonazol Propikonazol Pentaklorofenol Sipermetrin 1,2,3-Triklorobenzen Naftalen Heksaklorobenzen	
Stadnika-Michalak ve ark., 2014b		Farklı balık hücreleri hatları	benzo-a-piren	
Stott ve ark., 2015	Balık birincil solungaç epitel hücreleri	Gökkuşluğu alabalığı	Propranolol Metoprolol Atenolol Formoterol Terbutalin Ranitidin İmipramin	Farmasötik bileşiklerin solungaç epitelinde aktarımı incelenmiştir
Schnell ve ark., 2016	Solungaç epiteli	Gökkuşluğu alabalığı		

Ek R.7.10-2 için referanslar

Andersson T, Förlin L ve Hansson T (1983) Biotransformation of 7-ethoxycoumarin in isolated perfused rainbow trout liver (İzole yayılmış gökkuşluğu alabalığı karaciğerinde 7-etoksikumarinin biyodönüşümü). Drug Metab Dispos 11:494-8.

Baron MG, Purcell WM, Jackson SK, Owen SF ve Jha AN (2012) Towards a more representative *in vitro* method for fish ecotoxicology: morphological and biochemical characterisation of three-dimensional spheroidal hepatocytes (Balık ekotoksikolojisi için daha temsili bir *in vitro* yöntemine doğru: üç boyutlu küresel hepatositlerin morfolojik ve biyokimyasal karakterizasyonu). Ecotoxicol 21:2419-29.

Barron MG, Charron JA, Stott WT ve Duvall SE (1999) Tissue carboxylesterase activity of rainbow trout (Gökkuşluğu alabalığının doku karboksilesteraz aktivitesi). Environ Toxicol Chem 18:2506-12.

Carlsson C ve Pärt P (2001) 7-Ethoxyresorufin O-deethylase induction in rainbow trout gill epithelium cultured on permeable supports: asymmetrical distribution of substrate metabolites (Geçirgen destekler üzerinde kültürlenmiş gökkuşluğu alabalığı solungaç epitelinde 7-Etoksiresorufin O-deetilaz indüksiyonu: substrat metabolitlerinin asimetrik dağılımı). Aquat Toxicol 54:29-38.

Cowan-Ellsberry CE, Dyer SD, Erhardt S, Bernhard MJ, Roe AL, Dowty ME, Weisbrod AV (2008) Approach for extrapolating *in vitro* metabolism data to refine bioconcentration factor estimates (Biyokonsantrasyon faktörü tahminlerini iyileştirmek için *in vitro* metabolizma verilerinin ekstrapolasyonuna yönelik yaklaşım). *Chemosphere* 70:1804-17.

Cravedi JP, Perdu-Durand E ve Paris A (1998) Cytochrome P450-dependent metabolic pathways and glucuronidation in trout liver slices (Sitokrom P450'ye bağlı metabolik yollar ve alabalık karaciğer kesitlerinde glukuronidasyon). *Comp Biochem Physiol C, Comp Pharmacol Toxicol* 121:267-75.

Cravedi JP, Lafuente A, Baradat M, Hillenweck A ve Perdu-Durand E (1999) Biotransformation of pentachlorophenol, aniline and biphenyl in isolated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatocytes: comparison with *in vivo* metabolism (İzole gökkuşağı alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) hepatositlerinde pentaklorofenol, anilin ve bifenilin biyodönüşümü: *in vivo* metabolizma ile karşılaştırma). *Xenobiotica* 29:499-509.

Cravedi JP, Boudry G, Baradat M, Rao D ve Debrauer L (2001) Metabolic fate of 2,4-dichloroaniline, prochloraz and nonylphenol diethoxylate in rainbow trout: a comparative *in vivo/in vitro* approach (Gökkuşağı alabalığındaki 2,4-dikloroanilin, prokloraz ve nonilfenol dietoksilatın metabolik davranışı: karşılaştırmalı bir *in vivo/in vitro* yaklaşım). *Aquat Toxicol* 53:159-72.

Doi AM, Lao Z, Holmes E, Venugopal CS, Nyagode B, James MO ve Kleinow KM (2006) Intestinal bioavailability and biotransformation of 3,3',4,4'-tetrachlorobiphenyl (CB 77) in *in situ* preparations of channel catfish following dietary induction of CYP1A (CYP1A'nın beslenme yoluyla indüksiyonunu takiben kanal yayın balığı *in situ* hazırlamalarında 3,3', 4,4'-tetraklorobifenilin (CB 77) bağırsak biyoyararlanımı ve biyodönüşümü). *Aquat Toxicol* 77:33-42.

Dyer SD, Bernhard MJ, Cowan-Ellsberry C, Perdu-Durand E, Demmerle S ve Cravedi JP (2008) *In vitro* biotransformation of surfactants in fish. Part I: Linear alkylbenzene sulfonate (C12-LAS) and alcohol ethoxylate (C13EO8) (Balıklarda yüzey aktif maddelerin *in vitro* biyodönüşümü. Bölüm I: Doğrusal alkilbenzen sülfonat (C12-LAS) ve alkol etoksilat (C13EO8)). *Chemosphere* 72:850-62.

Embry MR, Bernhard M, Davis JW, Domoradzki J, Fay KA, Bischof I, Halder M, Han X, Hu J, Johanning K, Laue H, Nabb D, Nichols JW, Schlechtriem C, Segner H, van der Wal L ve Weeks JA (2015) *In vitro* Fish Hepatic Metabolism: Overview of Ring-Trial to Evaluate Transferability, Intra- and Interlaboratory Reproducibility (İn vitro Balık Hepatik Metabolizması: Aktarılabirliği, Laboratuvar İçi ve Laboratuvarlar Arası Tekrarlanabilirliği Değerlendirmek için Zincir Araştırmaya Genel Bakış). Özet TP113, SETAC Kuzey Amerika Yıllık Toplantısı, 1-5 Kasım 2015, Salt Lake City, UT, ABD. Erişim adresi: https://c.ymcdn.com/sites/www.setac.org/resource/resmgr/Abstract_Books/SETAC-SLC-Abstract-Book.pdf

Fay KA, Fitzsimmons AD, Hoffman AD, Nichols JW (2014a) Optimizing the use of rainbow trout hepatocytes for bioaccumulation assessments with fish (Balıklarda biyobirikim değerlendirmeleri için gökkuşağı alabalığı hepatositlerinin kullanımının optimizasyonu). *Xenobiotica* 44:345-51.

Fay KA, Mingoia RT, Goeritz I, Nabb DL, Hoffman AD, Ferrell BD, Peterson HM, Nichols JW, Segner H ve Han X (2014b) Intra- and inter-laboratory reliability of a cryopreserved trout hepatocyte assay for the prediction of chemical bioaccumulation potential (Kimyasal biyobirikim potansiyeli tahmini için dondurularak korunan alabalık hepatosit testinin laboratuvar içi ve laboratuvarlar arası güvenilirliği). *Environ Sci Technol* 48:8170-8.

Fay KA, Nabb DL, Mingoia RT, Bischof I, Nichols JW, Segner H, Johanning K ve Han X (2015a) Determination of metabolic stability using cryopreserved hepatocytes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) (Gökkuşuğu alabalığından (*Oncorhynchus mykiss*) dondurularak korunan hepatositler kullanılarak metabolik kararlılığın belirlenmesi). *Curr Protocol Toxicol* 65:4.42.1-4.42.29.

Fay KA, Embry MR, Bernhard M, Bischof I, Davis JW, Domoradzki J, Halder M, Han X, Hu J, Johanning K, Laue H, Nichols JW, Schlechtriem C, Segner H, van der Wal L ve Weeks JA (2015b) *In vitro* to *In vivo* Extrapolation of Hepatic Metabolism in Fish: An Inter-laboratory Comparison of *In vitro* Methods (Balıklarda Hepatik Metabolizmanın *İn vivo* Duruma Ekstrapolasyonu: *İn Vitro* Yöntemlerin Laboratuvarlar Arası Karşılaştırması). Özet 294, SETAC Kuzey Amerika 36. Yıllık Toplantısı, Salt Lake City, UT. Erişim adresi: https://c.ymcdn.com/sites/www.setac.org/resource/resmgr/Abstract_Books/SETAC-SLC-Abstract-Book.pdf

Förlin L ve Andersson T (1981) Effects of clopen A50 on the metabolism of parnitroanazole in an *in vitro* perfused rainbow trout liver (*İn vitro* perfüze gökkuşuğu alabalığı karaciğerinde klopen A50'nin parnitroanazol metabolizması üzerindeki etkileri). *Comp Biochem Physiol* 68C:239-42.

Gomez CF, Constantine L ve Huggett DB (2010) The influence of gill and liver metabolism on the predicted bioconcentration of three pharmaceuticals in fish (Solungaç ve karaciğer metabolizmasının balıklarda üç farmasötik maddenin öngörülen biyokonsantrasyonu üzerindeki etkisi). *Chemosphere* 81:1189-95.

Han X, Nabb DL, Mingoia RT ve Yang CH (2007) Determination of xenobiotic intrinsic clearance in freshly isolated hepatocytes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and rat and its application in bioaccumulation assessment (Gökkuşuğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) ve sıçandan yeni izole edilmiş hepatositlerde ksenobiyotik iç klirensin belirlenmesi ve biyobirikim değerlendirmesindeki uygulaması). *Environ Sci Technol* 41:3269-76.

Han X, Mingoia RT, Nabb DL, Yang CH, Snajdr SI ve Hoke RA (2008) Xenobiotic intrinsic clearance in freshly isolated hepatocytes from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): determination of trout hepatocellularity, optimization of cell concentrations and comparison of serum and serum-free incubations (Gökkuşuğu alabalığından (*Oncorhynchus mykiss*) taze izole edilmiş hepatositlerde ksenobiyotik içsel klirens: alabalık hepatoselüleritesinin belirlenmesi, hücre konsantrasyonlarının optimizasyonu ve serum ve serumun olmayan inkübasyonların karşılaştırılması). *Aquat Toxicol* 89:11-7.

Han X, Nabb DL, Yang CH, Snajdr SI ve Mingoia RT (2009) Liver microsomes and S9 from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): Comparison of basal-level enzyme activities with rat and determination of xenobiotic intrinsic clearance in support of bioaccumulation assessment (Gökkuşuğu alabalığından karaciğer mikrozomları ve (*Oncorhynchus mykiss*) S9: Bazal seviye enzim aktivitelerinin sıçanla karşılaştırılması ve biyobirikim değerlendirmesini desteklemek için ksenobiyotik iç klirensin belirlenmesi). *Environ Toxicol Chem* 28:481-8.

James MO, Tong Z, Rowland-Faux L, Venugopal CS ve Kleinow KM (2001) Intestinal bioavailability and biotransformation of 3-hydroxybenzo(a)pyrene in an isolated perfused preparation from channel catfish, *Ictalurus punctatus* (Kanal yayın balığından (*Ictalurus punctatus*) izole edilmiş bir perfüze preparatta 3-hidroksibenzo(a)pirenin bağırsak biyoyararlanımı ve biyodönüşümü). *Drug Metab Dispos* 29:721-8.

James MO, Kleinow KM, Zhang Y, Zheng R, Wang L ve Faux LR (2004) Increased toxicity of benzo(a)pyrene-7,8-dihydrodiol in the presence of polychlorobiphenyls (Poliklorobifenilollerin varlığında benzo(a)piren-7,8-dihidrodiolün artan toksisitesi). *Marine Environ Res* 58:343-6.

Johanning K, Hancock G, Escher B, Adekola A, Bernhard MJ, Cowan-Ellsberry C, Domodoradzki J, Dyer S, Eickhoff C, Embry M, Erhardt S, Fitzsimmons P, Halder M, Hill J, Holden D, Johnson R, Rutishauser S, Segner H, Schultz I ve Nichols J (2012a) Assessment of metabolic stability using the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) liver S9 fraction (Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) karaciğer S9 fraksiyonu kullanılarak metabolik kararlılığın değerlendirilmesi). *Curr Prot Toxicol* 53:14.10.1-14.10.28.

Kane AS ve Thohan S (1996) Dynamic culture of fish hepatic tissue slices to assess phase I and phase II biotransformation (Faz I ve Faz II biyodönüşümü değerlendirmek için balık hepatik doku kesitlerinin dinamik kültürü). *Kaynak: Ostrander GK (Ed.) Techniques in Aquatic Toxicology (Sucul Toksikolojide Teknikler), CRC Press, Boca Raton, FL.*

Kawano A, Haiduk C, Schirmer K, Hanner R, Lee LEJ, Dixon B ve Bols NC (2011) Development of a rainbow trout intestinal epithelial cell line and its response to lipopolysaccharide (Gökkuşluğu alabalığı bağırsak epitel hücre hattının geliştirilmesi ve lipopolisakkarite cevabı). *Aquacult Nutr* 17:e241-e252.

Kleinow KM, James MO, Tong Z ve Vengopalan CS (1998) Bioavailability and biotransformation of benzo(a)pyrene in a perfused *in situ* catfish intestinal preparation (Perfüze *in situ* yayın balığı bağırsak preparatında benzo(a)pirenin biyoyararlanımı ve biyodönüşümü). *Environ Health Persp* 106:155-66.

Kolanczyk R, Schmieder P, Bradbury S ve Spizzo T (1999) Biotransformation of 4-methoxyphenol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) hepatic microsomes (Gökkuşluğu alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) hepatik mikrozomlarda 4-metoksifenolün biyodönüşümü). *Aquat Toxicol* 45:47-61.

Lam J (2011) The use of isolated Rainbow trout enterocytes to estimate extrahepatic metabolism of commercial chemicals (Ticari kimyasalların karaciğer dışı metabolizmasını tahmin etmek için izole Gökkuşluğu alabalığı enterositlerinin kullanımı). Simon Fraser Üniversitesi, Yüksek Lisans Tezi. Erişim adresi: <http://summit.sfu.ca/item/12053>

Laue H, Gfeller H, Jenner KJ, Nichols JW, Kern S ve Natsch A (2014) Predicting the bioconcentration of *fragrance* ingredients by rainbow trout using measured rates of *in vitro* intrinsic clearance. (Ölçülen *in vitro* içsel klirens hızları kullanılarak gökkuşluğu alabalığı ile koku bileşenlerinin biyokonsantrasyonunun tahmin edilmesi). *Environ Sci Technol* 48:9486-95.

Mingoia RT, Glover KP, Nabb DL, Yang CH, Snajdr SI ve Han X (2010) Cryopreserved Hepatocytes from Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*): A Validation Study to Support Their Application in Bioaccumulation Assessment (Gökkuşluğu Alabalığından (*Oncorhynchus mykiss*) Dondurularak Korunan Hepatositler: Biyobirikim Değerlendirmesinde Uygulamalarını Desteklemek İçin Bir Doğrulama Çalışması). *Environ Sci Technol* 44:3052-8.

Nichols JW, Huggett DB, Arnot JA, Fitzsimmons PN ve Cowan-Ellsberry CE (2013a) Towards improved models for predicting bioconcentration of well-metabolized compounds by rainbow trout using measured rates of *in vitro* intrinsic clearance. (Ölçülen *in vitro* içsel klirens hızlarını kullanarak gökkuşluğu alabalığı tarafından iyi metabolize edilmiş bileşiklerin biyokonsantrasyonunu tahmin etmek üzere geliştirilmiş modellere doğru). *Environ Toxicol Chem* 32:1611-22.

Nichols JW, Hoffman AD, ter Laak TL, Fitzsimmons PN. (2013b). Hepatic clearance of 6 polycyclic aromatic hydrocarbons by isolated perfused trout livers: Prediction from *in vitro* clearance by liver S9 fractions (İzole perfüze alabalık karaciğerleri ile 6 polisiklik aromatik hidrokarbonun hepatik klirensi: Karaciğer S9 oranları ile *in vitro* temizlemeden tahmin). *Toxicol Sci* 6:359-372.

Schnell S, Stott LC, Hogstrand C, Wood CM, Kelly SP, Pärt P, Owen SF ve Bury NR (2016) Procedures for the reconstruction, primary culture and experimental use of rainbow trout gill epithelia (Gökkuşığı alabalığı solungaç epiteli rekonstrüksiyonu, birincil kültürü ve deneysel kullanımı için prosedürler). [Nat Protoc](#) 11:490-8.

Schultz IR ve Hayton WL (1999) Interspecies scaling of the bioaccumulation of lipophilic xenobiotics in fish: an example using trifluralin (Balıklarda lipofilik ksenobiyotiklerin biyobirikiminin türler arası ölçeklemesi: trifluralin kullanan bir örnek). *Environ Toxicol Chem* 18:1440-9.

Segner H ve Cravedi JP (2001) Metabolic activity in primary cultures of fish hepatocytes (Balık hepatositlerinin birincil kültürlerinde metabolik aktivite). *ATLA*, 29:251-7.

Smolarek TA, Morgan SL, Moynihan CG, Lee H, Harvey RG ve Baird WM (1987) Metabolism and DNA adduct formation of benzo[a]pyrene and 7,12- dimethylbenz[a]anthracene in fish cell lines in culture (Kültürde balık hücresi hatlarında benzo[a]piren ve 7,12-dimetilbenz[a]antraseninin metabolizması ve DNA eklenti oluşumu). *Carcinogenesis* 8:1501-9.

Stadnicka-Michalak J, Tanneberger K, Schirmer K ve Ashauer R (2014a) Measured and modeled toxicokinetics in cultured fish cells and application to *in vitro* – *in vivo* toxicity extrapolation (Kültürlenmiş balık hücrelerinde ölçülmüş ve modellenmiş toksikokinetik ve *in vitro*dan *in vivo*ya toksisite ekstrapolasyonuna uygulama). *PLoS ONE* 9, e92303.

Stadnicka-Michalak J, Weiss F, Knöbel M ve Schirmer K (2014b) (Balıklarda biyokonsantrasyonu tahmin etmek için balık hücre hatlarında biyodönüşüm: Benzo (a) piren ile bir vaka çalışması).

SETAC Kuzey Amerika 35. Yıllık Toplantısı, Vancouver, British Columbia, 9–13 Kasım 2014. SETAC Özet 407. Erişim adresi: https://c.ymcdn.com/sites/www.setac.org/resource/resmgr/Abstract_Books/SETAC-Vancouver-Abstracts%281%29.pdf

Stott LC, Schnell S, Hogstrand C, Owen SF ve Bury NR (2015) (Farmasötik alım ve dışa akışını değerlendirmek için birincil balık solungaç hücresi kültürü modeli: Pasif ve kolaylaştırılmış ulaşım için kanıtlar). *Aquat Toxicol* 159:127-37.

Walker PA, Bury NR ve Hogstrand C (2007) Influence of culture conditions on metal- induced responses in a cultured rainbow trout gill epithelium (Kültür koşullarının kültürlenmiş bir gökkuşığı alabalığı solungaç epitelinde metal kaynaklı cevaplar üzerindeki etkisi). *Environ Sci Technol* 41:6505-13.

Wood CM ve Pärt P (1997) Cultured branchial epithelia from freshwater fish gills (Tatlı su balıklarının solungaçlarından kültürlenmiş branşiyal epitel). *J Exp Biol* 200:1047-59.

Ek R.7.10-3 Zor maddeler ile ilgili hususlar

Bölüm [R.7.10.3.2](#)'de sunulan tahmin yöntemleri genellikle iyonlaşmayan organik maddeler için türetilmiştir. Bu nedenle, kompleks karışımlar ve çevresel pH düzeyinde yüklü maddeler (inorganik bileşikler gibi) dahil olmak üzere çok sayıda başka madde için sınırlı faydaya sahiptirler. Bunlar topluca *zor maddeler* olarak adlandırılabilir ve bu ek, bunların değerlendirilmesiyle ilgili rehberlik sağlar.

İnorganik maddeler

İnorganik maddelerin alım için yararlanımı pH, sertlik, sıcaklık ve redoks koşulları gibi faktörlere bağlı olarak değişebilir ve bunların tümü türleşmeyi etkileyebilir. BCF değerleri bu nedenle su kimyasından etkilenecektir. Genel olarak, yalnızca çözülmüş iyonlar potansiyel olarak doğrudan alım için mevcuttur.

Bazı organo-metalik maddeler (örneğin, metil-cıva) polar olmayan organikler gibi davranırken ve pasif yayılımla hücre zarlarından geçerken, birçok türde çözülmüş inorganik iyonların (özellikle metaller) alımı büyük ölçüde aktif özel taşıma sistemlerinin varlığına bağlıdır (örn. bakır ATPazlar, hücrelerdeki bakır alımını ve atılımını düzenler ve bakterilerden insanlara kadar çok çeşitli türlerde meydana gelir (Peña ve ark., 1999; Rae ve ark., 1999)). Bu sistemler doyurulabilir kinetiklerle düzenlenir ve belirli bir iyonun alım derecesi, ligand bağlanması ve reseptör bölgesindeki rekabetli etkileşimlerden güçlü bir şekilde etkilenecektir (örn. Campbell, 1995; Mason ve Jenkins, 1995). Organizmaya girdikten sonra, dahili iyon konsantrasyonu, genellikle lipidden ziyade proteinleri veya özel dokuları içeren aktif düzenleme ve depolamanın bir kombinasyonu yoluyla korunabilir (Adams, ve ark., 2000; McGeer, ve ark., 2003). Bu tür homeostatik mekanizmalar, temel metaller gibi maddelerin toplam vücut seviyelerinin, çeşitli dış konsantrasyonlarda belirli sınırlar içinde tutulmasına izin verir.

Bu süreçlerin bir sonucu olarak, organizmalar, eğer çevresel konsantrasyonlar düşükse (yüksek bir BCF değerine yol açar) metabolik gerekliliklerini karşılamak için bazı inorganik maddeleri aktif olarak biriktirebilirler. Daha yüksek konsantrasyonlarda, aktif düzenleme mekanizmalarına sahip organizmalar alımlarını bile sınırlayabilir ve fazla maddenin ortadan kaldırılmasını ve/veya depolanmasını artırabilir (daha düşük BCF değerlerine yol açar). Bu nedenle, belirli bir maruz kalma konsantrasyonu aralığı içinde maruz kalma konsantrasyonu ile BCF değeri arasında ters bir ilişki olabilir (McGeer, ve ark., 2003). Aktif vücut yükü düzenlemesinin birçok suda yaşayan türde meydana geldiği gösterilmiştir. Bununla birlikte, diğer türler, metalleri biriktirme ve bunları detoksifiye formlarda (örn. kalsiyum veya fosfat bazlı granüller, metalotiyonin benzeri protein bağlanması, vb.) saklama eğiliminde olacak ve böylece toksik vücut yüklerini homeostatik olarak düzenleyecektir (Rainbow, 2002; Giguère ve ark., 2003). Bununla birlikte, bazı durumlarda, ötesinde maddenin birikeceği ve toksik hale geleceği belirli bir harici konsantrasyonda homeostatik düzenleme kapasitesinin aşılabileceği kabul edilmelidir¹⁴.

¹⁴ Bazı metaller için kanıtlar, su konsantrasyonu üç basamaktan fazla değiştiğinde, BCF değerinde yaklaşık bir basamak bir değişiklik olduğunu göstermektedir. En yüksek BCF değerleri, en düşük maruz kalma konsantrasyonlarında ortaya çıkar ve genellikle çevresel açıdan gerçekçi konsantrasyonlardaki BCF değerleri kullanılmalıdır.

İnorganik maddeler için birikim ve toksik etkiler arasındaki ilişki karmaşıktır, ancak alım ve temizlenme/detoksifikasyon oranları arasındaki bağıl denge ile belirlenir (Rainbow, 2002).

Türleşme ve özellikle homeostatik düzenleme nedeniyle biyobirikim ve biyokonsantrasyon verilerinde gözlemlenen değişkenlik, bu nedenle verilerin değerlendirilmesini zorlaştırabilir (Adams ve Chapman, 2006). Veriler, ikincil zehirlenme ve insanların beslenmeyle maruz kalmanın değerlendirilmesi için kullanılabilir. Bununla birlikte, metallerin ve inorganik maddelerin sınıflandırılması için özel rehberlik gerekmektedir ve şu anda PBT değerlendirmelerinin kapsamı dışındadır.

Oktan-ol-su dağılım katsayısı (K_{ow}), inorganik maddeler için biyobirikim potansiyelini değerlendirmek üzere yararlı bir tahmin aracı değildir. Bazı göstergeler, aynı elementin benzer elementlerinden veya kimyasal türlerinden biyobirikim ve toksikokinetik bilgilerin çapraz okunmasıyla verilebilir. Yeterli veri mevcutsa iyonik boyut, metabolizma, oksidasyon durumu vb. gibi faktörler dikkate alınmalıdır. Bu, farklı kimyasal türler arasında çapraz okuma potansiyelini sınırlayabilir.

OECD Test Rehberi 305, maruz kalmaların ilgili çevresel koşullar ve konsantrasyonlar altında gerçekleştirilmesi koşuluyla, genellikle bir balık BCF değerinin belirlenmesi için uygundur. Deneysel biyobirikim verileri, çözünmüş maruz kalma konsantrasyonuna özel dikkat gösterilerek, durum bazında dikkatlice değerlendirilmelidir. Uzman görüşü kullanılarak ve mevcut verilerin değerlendirilmesine dayanılarak, iki olasılık vardır:

- Maddenin yırtıcı organizmalar veya çevre yoluyla maruz kalan insanlar için bir risk oluşturmasının olası olmadığı bir durum oluşturulabilir:
 - besin ağı biyomagnifikasyonunun bulunmamasına ve uzun süreli maruz kalmadan sonra daha yüksek trofik seviyelerdeki organizmaların düşük trofik seviyelerdekilerden daha hassas olmadığını gösteren bilgilere dayalı olarak veya
 - temel bir element olması ve dahili konsantrasyonlarının beklenen maruz kalma konsantrasyonlarında iyi bir şekilde düzenlenecek olması nedeniyle.

Bu tür iddialar, durum bazında yapılmalı ve kanıtlarla doğrulanmalıdır (örneğin, saha çalışmalarından). Unutulmamalıdır ki, bir madde belirli bir organizma için gerekli olabilirken, diğerleri için gerekli olmayabilir.

- Yukarıda bahsedilen bilgilerin yokluğunda, balıklar ve diğer suda yaşayan organizmalar için biyokonsantrasyon faktörleri mevcut verilerden türetilir ve KGD'de olağan şekilde dikkate alınır. Uygun verilerin yokluğunda yeni çalışmalar yapılmalıdır. Yukarıda tartışılan konular göz önüne alındığında, BCF/BAF değerlerinin doğrudan yorumlanmasına izin veren bir yaklaşım henüz geliştirilmemiştir. Biyomagnifikasyon faktörleri daha yararlı olabilir, ancak trofik aktarım potansiyelini değerlendirirken dikkatli olunmalıdır. Örneğin, bir inorganik maddenin bir kuş veya memeliye biyoyararlanımı, detoksifikasyon mekanizmalarındaki ve sindirim fizyolojisindeki farklılıklar nedeniyle suda yaşayan türlerdekinden farklı olabilir ve bu dikkate alınmalıdır. Saha çalışmalarından bilgi elde edilebilir, ancak veriler aynı zamanda sucül veya karasal laboratuvar besin zinciri aktarımı deneylerinden de elde edilebilir.

Kompleks karışımlar (petrol maddeleri dahil)

Kompleks karışımlar, mevcut olabilecek münferit maddelerin çeşitliliği ve bunların fiziko-kimyasal ve toksikolojik özelliklerindeki çeşitlilik nedeniyle biyobirikim değerlendirmesi için özel bir zorluk oluşturmaktadır. Ortalama veya ağırlıklı bir BCF değerinin tahmin edilmesi genellikle tavsiye edilmez, çünkü:

- sulu fazdaki bileşenlerin bileşimi, madde yükleme hızı ile doğrusal olmayan bir şekilde değişebilir, böylece BCF, yüklemenin bir fonksiyonu olarak da değişecektir;
- toplam maddenin miktarını belirlemek için kullanılan analitik yöntemlerdeki farklılıklar, sonuçların yorumlanmasında önemli belirsizliklere neden olabilir; ve
- bu yaklaşım, genel karışımdan çok daha yüksek bir biyokonsantrasyon potansiyeli sergileyebilecek belirli bileşenleri belirlemekte başarısızdır.

Bu nedenle, ilke olarak, biyobirikim potansiyeli açısından karışımdaki diğer bileşenlerin temsilcisi olarak kabul edilebilecek bir veya daha fazla bileşenin daha fazla değerlendirilmek üzere belirlenmesi tercih edilir (bileşenler arasında çapraz okuma açısından en kötü durum olarak görev alır - daha fazla rehberlik için bkz. ana metinde Bölüm [R.7.10.3.2](#)) Bu, ilgili bileşenlerin *bloklarının* oluşturulmasını içerebilir (örneğin hidrokarbon karışımları için). BCF, seçilen her bir bileşen için olağan şekilde (tahmin veya ölçüm yoluyla) belirlenir ve bu veriler daha sonra belirli bir karışımın bileşenleri için olası BCF değerleri aralığını değerlendirmek üzere kullanılabilir.

Mümkünse OECD Test Rehberi 305 yöntemi kullanılmalıdır (bileşenlerin ayrı ayrı izlenebilmesi şartıyla). Başka bir doğrulama adımına ihtiyaç duyulursa, biyobirikim testleri için en yüksek biyobirikimli bileşen(ler) seçilmelidir (bunun özütlenebileceği veya sentezlenebileceği varsayılarak).

Dallanma veya alkil yer değiştirmesinin bazen biyokonsantrasyon potansiyelini arttırdığı (örneğin, biyodönüşüm oranındaki azalma ve/veya alımın temizlenmesindeki artış nedeniyle) belirtilmelidir. Temsili bir bileşen seçerken bu tür faktörleri dikkate almaya özen gösterilmelidir. Belirli bir kompleks karışımı temsil edecek bileşenlerin seçiminin doğrulanmasında bir tür *hassasiyet analizi* faydalı olabilir. Daha ileri testler için belirli bileşenlerin seçiminin arkasındaki mantık/uygunluk da yasal ihtiyaçlara bağlı olabilir (örneğin zararlılık sınıflandırması için sınıflandırmaya ait belirli %eşik değerleri)

Temsili bileşenlerin tanımlanması mümkün değilse, o zaman sadece geniş bir biyobirikim potansiyeli göstergesi elde edilebilir. Örneğin, bir HPLC yönteminden bir dizi K_{ow} değeri türetmek mümkün olabilir veya bir biyomimetik yaklaşım kullanılabilir (toplam organik karbon ölçümüne dayalı olarak). Biyobirikim potansiyeli için potansiyel bir endişe tetiklenirse, sonuçları iyileştirmek için uzman tavsiyesi gerekecektir.

İyonlaşabilir maddeler

Genel olarak, iyonlaşmış organik maddeler solunum yüzeylerinde kolaylıkla yayılmazlar, ancak diğer süreçler alımda rol oynayabilir (örn. karmaşık geçiş, taşıyıcı aracılı süreçler, iyon kanalları veya ATPazlar). Ayrışmış ve nötr kimyasal türler bu nedenle önemli ölçüde farklı biyoyararlanıma sahip olabilir.

Bu sebeple, yüzey sularında ve fizyolojik koşullar altında (pH 3-9) iyonlaşma derecesini değerlendirmek için pKa değerini bilmek veya tahmin etmek önemlidir (pKa ile ilgili daha fazla ayrıntı ve farklı pH seviyelerinde log K_{ow} tahmini için bkz. Bölüm R.7.1.).

İyonlaşmış maddelerin balık BCF değerleri, uygun nicel yapı aktivite ilişkileri kullanılarak tahmin edilebilir (örn. Meylan ve ark., 1999). İlave olarak, iyonlaşmış bir maddenin log BCF değeri, BCF ve K_{ow} arasındaki ilişkiye dayalı olarak iyonlaşmamış formun log BCF değerine bir düzeltme faktörü uygulanarak herhangi bir pH seviyesinde tahmin edilebilir. Bu faktör, $\log(10^{pH-pKa}+1)$ olarak Henderson-Hasselbach denkleminde türetilen olacaktır. Ancak, bu, bazı durumlarda BCF değerinin olduğundan daha az tahmin edilmesine yol açabilir, çünkü iyonlaşmış form, tek başına K_{ow} tarafından önerilenden daha birikimli olabilir. Örneğin, Saarikoski ve Viluksela (1982) tarafından bir grup fenolik bileşik için $\log(10^{pH-pKa}+1)$ düzeltme faktörü daha uygun olarak bulunmuştur. Escher ve ark. (2002) ayrıca, hücre bileşenleriyle reaktivite durumunda, iyonlaşmış organik maddeler için K_{ow} değerinin biyolojik membran-su dağılımının her zaman iyi bir göstergesi olmadığını göstermiştir.

Bu nedenle, iyonlaşmış maddelerin biyoabirlikim davranışı hakkındaki varsayımların BCF değerinin olduğundan az tahmin edilmesine yol açabileceği açıktır. Bunun bir değerlendirmede önemli bir faktör olması muhtemel olduğunda, balıklarla bir biyo-konsantrasyon testi gerekebilir.

Bu, tercihen, maddenin en hidrofobik olduğu (yani iyonlaşmamış form, serbest asit veya serbest baz olarak) ekolojik olarak ilgili bir pH seviyesinde, uygun bir tampon (örn. bir asit için bu pKa değerinin altında pH; bir baz için ise pKa değerinin üzerinde bir pH seviyesinde olacaktır) kullanılarak yürütülmelidir.

İyonlaşmış formun BCF değerinin nicel bir tahmininin mümkün olmadığı durumlarda, pH seviyesinin rolü, değerlendirmede en azından nitel olarak tartışılmalıdır.

Yüzey aktif maddeler (sümfaktanlar)

Bir madde, komşu fazlarla (örn. hava) bir çözeltinin arayüzünde zenginleştiğinde *yüzey aktiftir*. Genel olarak, yüzey aktif maddeler, sırasıyla hidrofobik kuyruk ve hidrofilik baş grup olarak anılan bir apolar ve bir polar kısımdan oluşur. Baş grubun yüküne göre yüzey aktif maddeler anyonik, katyonik, iyonik olmayan veya amfoterik olarak kategorize edilebilir (Tolls ve Sijm, 2000). Bu yapısal çeşitlilik, biyobirikim potansiyelinin bir bütün halindeki gruptan ziyade bu alt kategorilerle ilişkili olarak değerlendirilmesi gerektiği anlamına gelir (eleştirel bir inceleme için bkz. Tolls ve ark. (1994)).

Yüzey aktif maddeler, su içinde miseller veya emülsiyonlar oluşturabilir, bu da madde çözünmüş gibi görünse bile biyoyararlanımlı oranı azaltabilir. Bu, balık BCF testleri için veri yorumlama sorunlarına neden olabilir ve K_{ow} değerinin şişe çalkalama veya yavaş karıştırma yöntemleri kullanılarak ölçülemeyeceği anlamına gelir (K_{ow} değerinin nasıl ölçülebileceği veya tahmin edilebileceği hakkında daha fazla ayrıntı için bkz. Bölüm R.7.1.).

Log K_{ow} tahminleri ile biyokonsantrasyon arasındaki ilişkinin kalitesi, ilgili yüzey aktif maddenin kategorisine ve özel tipine bağlıdır. Kritik misel konsantrasyonu (CMC) gibi diğer hidrofobiklik ölçümleri, bazı durumlarda daha uygun olabilir (örn. Roberts ve Marshall, 1995; Tolls ve Sijm, 1995).

Gerçekte, kritik misel konsantrasyonunun azalan değerleri ile artan biyokonsantrasyon arasında genel bir eğilim gözlemlenebilir, bu da biyokonsantrasyonun diğer maddelerde olduğu gibi hidrofobiklikle birlikte arttığını doğrular.

Bununla birlikte, birçok düz alkil zincirli yüzey aktif madde, balıkta kolaylıkla metabolize edilir, böylece tahmini BCF değerleri olduğundan fazla tahmin edilebilir (ör. Tolls ve Sijm, 1999; Tolls ve ark., 2000; Comber ve ark., 2003). Bu nedenle, hidrofobiklik ölçümlerine (log K_{ow} gibi) dayalı biyokonsantrasyon potansiyelinin sınıflandırılması dikkatli kullanılmalıdır. Biyokonsantrasyon davranışının fiziko-kimyasal parametrelerle ilişkisi ancak aşağıdaki durumlarda beklenebilir:

- a. biyodönüşüm hızının bir yüzey aktif madde serisi boyunca aynı olması veya
- b. biyodönüşümün bir rol oynamaması (örn. biyokonsantrasyonun artan zincir uzunluğu ile artacağı dallanmış alkil zincirleri için) (Tolls ve Sijm, 2000).

Ölçülen BCF değerleri tercih edilir.

Dikkate alınması gereken ek bir faktör, ticari yüzey aktif maddelerin, her biri kendi BCF değerine sahip zincir uzunluklarının karışımları olma eğiliminde olmasıdır (örneğin, Tolls, ve ark., 1997 ve 2000). Kompleks karışımlar için rehberlik bu nedenle ticari yüzey aktif maddeler için de geçerlidir. Testlere ihtiyaç duyulursa, mümkünse tek zincir uzunluğu ile yapılması tavsiye edilir.

Lipide dağılmayan organik maddeler

Biyokonsantrasyon genellikle su ve lipid arasında bir dağılım süreci olarak kabul edilir ve organizmadaki diğer dağıtım ortamları genellikle ihmal edilebilir (su oranı suda çözünür maddeler için bir rol oynayabilir (de Wolf ve ark, 1994)).

Bununla birlikte, proteinlerin, biyokonsantrasyona katkıda bulunan üçüncü bir dağıtım ortamı olduğu öne sürülmüştür (SCHER, 2005) ve belirli madde türleri (örneğin, perflorosülfonatlar, alkil- veya glutatyon bileşikler gibi organometalik bileşikler, örneğin metil cıva, metil arsenik vb.) için önemli olabilir. Memeli toksikokinetik çalışmalarından böyle bir rolün kanıtı elde edilebilir.

Biyolojik sistemlerde protein bağlanması bir dizi işlevi yerine getirir (örn. bir etkiyi etkinleştirmek ve/veya tetiklemek için reseptör bağlanması; enzimlerle katalitik bir reaksiyon için bağlanma; taşımayı mümkün kılmak için taşıyıcı proteinlere bağlanma; suda çözünürlüğün üzerindeki yüksek lokal konsantrasyonları elde etmek/sürdürmek için bağlanma, hemoglobine oksijen bağlanması gibi, vb.). Bazı durumlarda bağlanma, çevreleyen ortama göre çok daha yüksek lokal ligand konsantrasyonlarına yol açabilir.

Bununla birlikte, sürecin zorunlu olarak yalnızca dağılım ile yürütülmesi gerekmediği için resim karmaşık olabilir (bağlanma bölgeleri doymuş hale gelebilir ve bağlanma tersinir olabilir veya olmayabilir). Aslında, ölçülen BCF değerlerinin protein bağlanması nedeniyle konsantrasyona bağlı olabileceği öne sürülmüştür (SCHER, 2004). Diğer bir deyişle, biyokonsantrasyon, lipid çözünürlüğü ve dağılımdan ziyade protein bağlanma bölgelerinin sayısı ile sınırlıdır. Protein bağlanmasının trofik seviyelerde besin zinciri aktarımına nasıl yol açabileceğini kavramsallaştırmak ve diğer (lipidler ve su) dağıtım mekanizmalarına kıyasla bağlı katkısını değerlendirmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

Bu tür çalışmaların yokluğunda, eliminasyon çalışmaları, proteinler aracılığıyla birikebilen maddelerin yarı ömürlerini biyobirikimli olduğu bilinen diğer maddelerle karşılaştırmak için faydalı olabilir.

Ek R.7.10-1 için referanslar

Adams WJ ve Chapman PM (2006) Assessing the Hazard of Metals and Inorganic Metal Substances in Aquatic and Terrestrial Systems (Sucul ve Karasal Sistemlerde Metallerin ve İnorganik Metal Maddelerin Zararlılığını Değerlendirme). SETAC.

Adams WJ, Conard B, Ethier G, Brix KV, Paquin PR ve Di Toro DM (2000) The challenges of hazard identification and classification of insoluble metals and metal substances for the aquatic environment (Sucul ortam için çözünmeyen metallerin ve metal maddelerin zararlılığının tanımlanması ve sınıflandırılmasındaki zorluklar). *Hum Ecol Risk Assess* 6:1019-38.

Campbell PGC (1995) Interactions between trace metals and aquatic organisms: A critique of the free-ion activity model (Eser metaller ve sucul organizmalar arasındaki etkileşimler: Serbest iyon aktivitesi modelinin bir eleştirisi). *Kaynak: Tessier A ve Turner A (Ed.) Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems (Sucul Sistemlerde Metal Türleşmesi ve Biyoyararlanım)*, John Wiley and Sons, Chichester, İngiltere, s. 45-102.

Comber MHI, de Wolf W, Cavalli L, van Egmond R, Steber J, Tattersfield L ve Priston RA (2003) Assessment of bioconcentration and secondary poisoning of surfactants (Yüzey aktif maddelerin biyokonsantrasyonunun ve ikincil zehirlenmesinin değerlendirilmesi). *Chemosphere* 52:23-32.

de Wolf W, Mast B, Yedema ESE, Seinen W ve Hermens JLM (1994) Kinetics of 4-chloroaniline in guppy *Poecilia reticulata* (*Lepistes Poecilia reticulata*'da 4-kloroanilin kinetiği). *Aquat Toxicol* 28:65-78.

Escher BI, Eggen RIL, Schreiber U, Schreiber Z, Vye E, Wisner B ve Schwarzenbach RP (2002) Baseline toxicity (narcosis) of organic chemicals determined by *in vitro* membrane potential measurements in energy transducing membranes (Enerji dönüştürücü membranlarda *in vitro* membran potansiyeli ölçümleriyle belirlenen organik kimyasalların temel toksisitesi (narkoz)). *Environ Sci Technol* 36:1971-9.

Giguère A, Couillard Y, Campbell PGC, Perceval O, Hare L, Pinel-Alloul B ve Pellerin J (2003) Steady-state distribution of metals among metallothionein and other cytosolic ligands and links to cytotoxicity in bivalves living along a polymetallic gradient (Metalotiyonin ve diğer sitosolik ligandlar arasında metallerin kararlı hal dağılımı ve polimetallik bir gradyan boyunca yaşayan çift kabuklularda sitotoksositeye bağlantılar). *Aquat Toxicol* 64:185-203.

Mason AZ ve Jenkins KD (1995) Metal detoxification in aquatic organisms (Sucul organizmalarda metal detoksifikasyonu). *Kaynak: Tessier A ve Turner A (Ed.) Metal Speciation and Bioavailability in Aquatic Systems (Sucul Sistemlerde Metal Türleşmesi ve Biyoyararlanım)*, John Wiley and Sons, Chichester, İngiltere, s. 479-608.

McGeer JC, Brix KV, Skeaff JM, DeForest DK, Brigham SI, Adams WJ ve Green A (2003) Inverse relationship between bioconcentration factor and exposure concentration for metals: implications for hazard assessment of metals in the aquatic environment (Biyokonsantrasyon faktörü ve metaller için maruz kalma konsantrasyonu arasındaki ters ilişki: sucul ortamdaki metallerin zararlılık değerlendirmesi için çıkarımlar). *Environ Toxicol Chem* 22:1017-37.

Peña MMO, Lee J ve Thiele DJ (1999) A delicate balance: homeostatic control of copper uptake and distribution (Hassas bir denge: bakır alımı ve dağılımının homeostatik kontrolü). *J Nutr* 129:1251-60.

Rae TD, Schmidt PJ, Pufahl RA, Culotta VC ve O'Halloran TV (1999) Undetectable intracellular free copper: the requirement of a copper chaperone for superoxide dismutase (Saptanamayan hücre içi serbest bakır: süperoksit dismutaz için bir bakır şaperon gerekliliği). *Science* 284:805-8.

Rainbow PS (2002) Trace metal concentrations in aquatic invertebrates: why and so what (Sucul omurgasızlarda eser miktarda metal konsantrasyonları: neden ve sonucu ne?) *Environ Pollut* 120:497-507.

Saarikoski J ve Viluksela M (1982) Relation between physico-chemical properties of phenols and their toxicity and accumulation in fish (Fenollerin fiziko-kimyasal özellikleri ile balıklarda toksisiteleri ve birikimleri arasındaki ilişki). *Ecotoxicol Environ Saf* 6:501-12.

Roberts DW ve Marshall SJ (1995) Application of hydrophobicity parameters to prediction of the acute aquatic toxicity of commercial surfactant mixtures (Ticari yüzey aktif madde karışımlarının akut sucul toksisitesinin tahminine hidrofobiklik parametrelerinin uygulanması.) *SAR QSAR Environ Res* 4:167-76.

SCHER (2005) "Perflorooktan Sülfonatlar Risk azaltma stratejisi ve avantaj ve dezavantajların analizi" isimli RPA raporu hakkındaki görüş (Nihai rapor - Ağustos 2004). Görüş, 18 Mart 2005 tarihli 4. Genel Kurul'da kabul edilmiştir.

Tolls J, Haller M, De Graaf I, Thijssen MATC ve Sijm DTHM (1997) Bioconcentration of LAS: experimental determination and extrapolation to environmental mixtures (LAS Biyokonsantrasyonu: deneysel belirleme ve çevresel karışımlara ekstrapolasyon). *Environ Sci Technol* 31:3426-31.

Tolls J ve Sijm DTHM (1995) A preliminary evaluation of the relationship between bioconcentration and hydrophobicity for surfactants (Sümfaktanlar için biyokonsantrasyon ve hidrofobiklik arasındaki ilişkinin bir ön değerlendirmesi). *Environ Toxicol Chem* 14:1675-85.

Tolls J ve Sijm DTHM (1999) Bioconcentration and biotransformation of the nonionic surfactant octaethylene glycol monotridecyl ether ¹⁴C-C13EO8 (Noniyonik yüzey aktif madde oktaetilen glikol monotridisil eter ¹⁴ C-C13EO8'in biyo-konsantrasyonu ve biyodönüşümü). *Environ Toxicol Chem* 18:2689-95.

Tolls J ve Sijm DTHM (2000) Estimating the properties of surface-active chemicals (Yüzey aktif kimyasalların özelliklerinin tahmin edilmesi). *Kaynak: Boethling RS ve 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 Publishers, Boca Raton, FL, ABD.*

Tolls J, Sijm DTHM ve Kloepper-Sams P (1994) Surfactant bioconcentration - a critical review (Yüzey aktif madde biyokonsantrasyonu - kritik bir inceleme). *Chemosphere* 29:693-717.

Ek R.7.10-4 (Sürekli akış) balık biyobirikim çalışmasının veri güvenilirliği için kalite kriterleri

Test maddesi hakkında ön bilgiler

Suda çözünürlük:

Buhar basıncı:

Log K_{ow}:

Akut balık toksisitesi LC₅₀

Kararlılık/biyobozunurluk:

Diğer yorumlar:

Öge	İlgili kriterler	Kontrol
GLP sertifikası	-	
Test maddesinin kimliği	Zor madde mi?	
Test türü ve test hayvanlarının seçimi	Benzer uzunluk ve yaştaki tek stoktan. Aşağıdaki <i>Not</i> içerisinde açıklanan koşullar altında en az 14 gün tutulur.	
Su kalitesi	Toplam sertlik 10-250 mg/l CaCO ₃ , pH 6 – 8.5, PM < 5 mg/l, TOC 2 mg/l. Diğer parametreler için rehber incelenmelidir.	
Test maddesi hazırlama	Kullanılan taşıyıcı? Çözücü ve dağıtıcıların kullanılması tavsiye edilmez.	
Test süresi	Alım aşaması 28 gün veya kararlı hale ulaşıncaya kadar. < 60 günden az olmalıdır. Kararlı hal yüzdesi belirtilmiş mi? Temizlenme aşamasının yarısı alım aşamasıdır (yani < alım aşamasının iki katı uzunluğu)	
Test konsantrasyonu aralığı	En yüksek LC ₅₀ değerinin ~%1'i ve tespit sınırından > 10 kat daha yüksek olan minimum 2 konsantrasyon. Konsantrasyonlar arasında on kat fark.	
Hayvan/tekrar sayısı	Her konsantrasyon için minimum dört balık/numune. En küçüğün ağırlığı > en büyüğün 2/3 miktarı. Bir kontrol.	
Yükleme	0.1 - 1 g/l (çözünmüş oksijen > %60 doygunluk olduğu sürece)	

Öge	İlgili kriterler	Kontrol
Besleme	% 1-2 vücut ağırlığı/gün.	
Aydınlık-karanlık döngüsü	12-16 saat aydınlatma/gün	
Test sıcaklığı	± 2°C (test türü için uygun şekilde)	
pH sapması	Hiçbir sapma > 0.5 birim olmamalıdır.	
Çözünmüş oksijen konsantrasyonu	> %60 doygunluk	
Konsantrasyonun korunması	Suda başlangıç değerinin %80'i içinde. Kayıpların açıklaması?	
Kullanılan analitik yöntem?	Maddeye özel analiz zor ise radyoaktif işaretli test maddesi kullanılabilir. Yüksek radyoaktif işaretli BCF değerleri, bozunma ürünlerinin kimliğini gerektirebilir.	
Uygun analiz aralığı?	Balık - alım sırasında en az 5 kez ve temizlenme sırasında 4 kez. Su - balık gibi. Her ikisi de kinetiğe bağlı olarak daha yüksek sıklığa ihtiyaç duyabilir.	
Ölüm oranı	Kontrol ve uygulama yapılan balıklarda ölüm/olumsuz etkiler < %10 olmalıdır (veya test uzatılırsa <%5/ay, toplamda > %30 olmamalıdır)	
Sonuçlar ve istatistiksel uygulama	Kararlı hal veya kinetik BCF hem tüm vücut ağırlığına hem de log K _{ow} > 3 için lipid içeriğine dayanır. Büyüme düzeltilmesi düşünülmüş mü?	

Ek yorumlar (örn. sonuçlar lipid veya büyüme için düzeltme gerektiriyor mu)/test yeterli mi?:

Test Sonucu:

Not: Önerilen balık türleri

Tür	Test sıcaklığı, °C	Toplam uzunluk, cm
<i>Danio rerio</i>	20 - 25	3 ± 0,5
<i>Pimephales promelas</i>	20 - 25	5 ± 2
<i>Cyprinus carpio</i>	20 - 25	5 ± 3
<i>Oryzias latipes</i>	20 - 25	4 ± 1
<i>Poecilia reticulata</i>	20 - 25	3 ± 1
<i>Lepomis macrochirus</i>	20 - 25	5 ± 2
<i>Oncorhynchus mykiss</i>	13 - 17	8 ± 4
<i>Gasterosteus aculeatus</i>	18 - 20	3 ± 1

Balıklar, aşağıdaki koşullarda en az 14 gün tutulmalıdır:

- Testte kullanılan benzer bir beslenme ile düzenli olarak beslenir.
- 48 saatlik alışma döneminden sonra kaydedilen ölümler; (i) 7 günde popülasyonun >% 10'unda ölüm meydana gelirse, tüm parti reddedilir, (ii) ilave 7 gün boyunca %5 - 10 alıştırma, (iii) < % 5 parti kabul edilir.

Hastalık ve anormallik olmamalıdır ve testten 14 gün önce ve test sırasında veteriner tedavisi görmemelidir)

R.7.11 Karasal organizmalar üzerindeki etkiler

R.7.11.1 Giriş

Çevredeki maddeler, karasal organizmalar için zararlılığa neden olabilir ve bu nedenle, doğal ve antropojenik ekosistemler içindeki ekolojik süreçler üzerinde potansiyel zararlı etkilere sahip olabilir. Karasal çevrenin karmaşıklığı ve çeşitliliği nedeniyle, tüm ortam için kapsamlı bir etki değerlendirmesi, yalnızca (i) karasal organizmaların maddelere (yani hava, gıda, gözenek suyu, yığın toprak) maruz kalabileceği farklı yolları ve (ii) potansiyel olarak etkilenen karasal organizmaların (mikro organizma, bitkiler, omurgasızlar, omurgalılar) en ilgili taksonomik ve fonksiyonel gruplarını kapsayan bir dizi değerlendirme sonlanma noktası ile gerçekleştirilebilir (CSTEE, 2000). KKDİK yönetmeliği uyarınca karasal etki değerlendirmesinin kapsamı, dar anlamda toprak organizmaları ile sınırlıdır, yani ömürlerinin çoğunu toprak içinde yaşayan ve toprak yoluyla maddelere maruz kalan omurgasız organizmalarla sınırlıdır ve AB içerisinde yeni ve mevcut maddelerin çevresel risk değerlendirmesindeki önceki uygulamalarla uyumlu olmalıdır. Karasal ortam için etki değerlendirmesinin gerçek kapsamı aşağıda belirtilenleri içermez (AB, 2003):

- yer üstünde yaşayan karasal omurgasızlar (örn. yerde yaşayan böcekler),
- ömürlerinin bir bölümünü toprakta yaşayan kara omurgalıları (örn. fareler),
- yeraltı suyu organizmaları (omurgasızlar ve mikro organizma) ve
- topraktaki biyota ile sadece dolaylı olarak bağlantılı olan toprak fonksiyonları üzerindeki olumsuz etkiler (örn. tamponlama kapasitesi, toprak yapısı oluşumu, su döngüsü vb.) Bununla birlikte, toprak biyotası üzerindeki doğrudan etkileri ele alarak, bu toprak fonksiyonları üzerindeki potansiyel etkilerin dolaylı olarak ele alındığı vurgulanmalıdır (aşağıya bakınız).

Yer üstünde yaşayan kara omurgalılarına gelince, memeliler (Bölüm R.7.2 ila R.7.7) ve kuşlar (Bölüm [R.7.10.16](#)) için ilgili bölümlere atıfta bulunulur.

Maddelerin çevresel risk değerlendirmesi kapsamında toprak organizmaları üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerin değerlendirilmesinin önemi en az iki kattır:

İlk olarak, toprak, çevreye yayılan antropojenik maddeler için büyük bir havuz olduğundan, toprak organizmalarının maruz kalmasına ilişkin genel bir endişe vardır. Bu, özellikle toprakta birikebilen ve dolayısıyla toprak organizmaları için uzun süreli bir risk oluşturan, doğal toksik potansiyele sahip kalıcı maddeler için çok önemlidir. İkincisi, belirli toprak organizmalarının korunması, toprak fonksiyonlarını sürdürmedeki rolleri nedeniyle kritiktir (örn. organik maddenin parçalanması, toprak yapısının oluşumu ve besin maddelerinin döngüsü). İkincisi göz önüne alındığında, toprak için koruma hedefleri, toprak biyotasının hem yapısı (toprak organizmaları topluluklarının çeşitliliği ve yapısı) hem de fonksiyonları (toprak organizma toplulukları tarafından sağlanan ekosistem fonksiyonları) ile ilgili olabilir.

Belirli bir maddenin toprak organizmaları üzerindeki etkisinin değerlendirilmesi için değerli katkılar, maddenin davranışı hakkında bilgi sağlayan fiziko-kimyasal özellikler (Bölüm R.7.1) ve (biyo-)bozunma (Bölüm R.7.9) gibi sonlanma noktalarından elde edilebilir. Toprak organizmalarına ilişkin deneysel verilerin yokluğunda, sucul organizmalar üzerinde oluşturulan veriler kullanılabilir (Denge Dağılım Yöntemi, EPM);

KKDİK kapsamında sucul organizmalar için bilgi gereklilikleri Bölüm R.7.8'de ele alınmaktadır.

Bununla birlikte, Denge Dağılım Yönteminin geçerlilik alanına ilişkin yüksek düzeyde belirsizlik nedeniyle, bu yaklaşım yalnızca tarama amaçlarıyla sınırlandırılmalıdır.

Toprak ekosistemlerinin karmaşıklığı, heterojenliği ve çeşitliliği, maddelerin toprak organizmaları üzerindeki potansiyel olumsuz etkilerini değerlendirirken karşılaşılan en büyük zorluktur. Bu, substrat olarak toprak ve dolayısıyla maruz kalma ortamı ve toprakta yaşayan biyota toplulukları için geçerlidir. Çevre koşullarındaki mekansal ve zamansal dalgalanmalar, yani iklim, topraktaki potansiyel etkilerin değerlendirilmesinin karmaşıklığını artırır.

Toprak

Maruz kalma ortamı olarak kabul edilirse toprak, organik olmayan ve ölü organik maddeler, toprak gözenek suyu ve gözenek boşluğundan (toprak havası) oluşan oldukça karmaşık, üç fazlı bir sistemle karakterize edilir. Toprak sistemine salınan maddeler, davranışlarını (örn. dağılım, soğurma/yüzeyden sıyrılma, dönüşüm, bağlanma ve parçalanma) ve dolayısıyla biyoyararlanımlarını (aşağıya bakınız) ve toprak organizmaları üzerindeki etkilerini etkileyebilecek farklı fiziksel, kimyasal ve biyolojik süreçlere maruz kalmaktadır. Dahası, yapı, doku ve biyolojik aktivite, sırasıyla farklı toprak türleri ve bölgeleri arasında büyük farklılıklar gösterir ve toprak özellikleri, değişen çevresel koşullara (örn. organik madde içeriğindeki veya toprak gözenek miktarındaki değişiklikler) bağlı olarak bile değişebilir. Sonuç olarak, farklı topraklar arasında davranış ve etki verilerinin karşılaştırılabilirliği sınırlıdır ve bu da ekstrapolasyonları külfetli hale getirir. Bu nedenle, biyolojik test veya izleme prosedürleri için uygun toprakların seçimi, toprak organizmaları üzerindeki etkilerin değerlendirilmesinde çok önemli bir adımdır. Ayrıca, toprak etkisi verilerinin belirli bir toprak parametresine (örn. organik madde içeriği veya kil içeriği) standartlaştırılması yaygın bir uygulamadır.

Toprak organizmaları

Sahadaki tipik toprak organizması toplulukları, taksonomik bileşimleri bakımından oldukça çeşitlidir ve karmaşık karşılıklı ilişkilerle (örneğin, besin ağları) yapılandırılmıştır. Türlerin çeşitliliği nedeniyle, boyut, toprak mikro habitatı, fizyoloji ve yaşam öyküsü bakımından farklılık gösteren topraklarda toksik maddelerin olumsuz etkileri için çok sayıda potansiyel alıcı bulunmaktadır. Sonuç olarak, topraktaki maddelerin kapsamlı bir etki değerlendirmesi için büyük ekolojik öneme sahip üç toprak organizma grubunu temsil eden ve ilgili tüm toprak maruz kalma yollarını kapsayan bir dizi gösterge gereklidir (bkz. [Tablo R.7.11—1](#)).

Tablo R.7.11—1 Etki değerlendirmesinde dikkate alınacak başlıca toprak organizmaları grupları

Organizma grubu	Ekolojik süreç	Toprak maruz kalma yolu	Önemli taksonlar
Bitkiler	Birincil üretim	Esas olarak toprak gözenek suyu (kök alımıyla)	Tüm yüksek bitkiler
Omurgasızlar	Organik maddenin parçalanması Toprak yapısının oluşumu	Çeşitli ve çoklu alım yolları (toprak gözenek suyu, toprak malzemesinin yutulması, toprak havası, ikincil zehirlenme)	Toprak solucanları, sıçrarak kuyruklular, akarlar
Mikroorganizmalar	Besinlerin geri dönüşümü	Esas olarak toprak gözenek suyu	Bakteriler, protozoa, mantarlar

Toprak biyoanalizi

Toprak biyoanalizleri, şu anda maddelerin toprak organizmalarına toksisitesi hakkında deneysel bilgi üretmenin en önemli yöntemidir. Bu biyoanalizler, test organizmalarının, kontrollü laboratuvar koşulları altında, topraktaki test maddesinin artan konsantrasyonlarına maruz bırakılmasıyla gerçekleştirilir. Kısa süreli (örn. ölüm oranı) veya uzun süreli (örn. büyüme veya üremenin inhibisyonu) toksik etkiler ölçülür. İdeal olarak, toksisite testi sonuçları, konsantrasyon-etki ilişkisi hakkında bilgi verir ve tanımlanan Etki Konsantrasyonlarının (EC_x, yani %x etkiyle sonuçlanan etkili konsantrasyon) ve/veya Etki Gözlemlenmeyen Konsantrasyonların (NOEC) istatistiksel türetilmesine izin verir. Geleneksel olarak, uluslararası standartlaştırılmış test rehberleri (OECD, ISO) tarafından oluşturulan EC_x ve NOEC değerleri en güvenilir toksisite verilerini sunar. Ancak, halihazırda toprak organizması için yalnızca sınırlı sayıda standart test rehberi mevcuttur; bu, maddelerin toprak organizmalarına karşı toksisitesine ilişkin genel olarak sınırlı olan veri tabanını yansıtır.

Biyoyararlanım

Topraktaki maddelerin biyoyararlanımı ele alınarak, toprağın çeşitliliği ve karmaşıklığını ele almak için potansiyel bir yöntem sağlanmaktadır. Biyoyararlanım, madde özellikleri (anahtar parametre: suda çözünürlük, K_{oc}, buhar basıncı), toprak özellikleri (anahtar parametre ile: kil içeriği, organik madde içeriği, pH değeri, katyon değişim kapasitesi) ve toprak organizmalarının biyolojisi (anahtar parametre: mikro habitat, morfoloji, fizyoloji, yaşam süresi) ile belirlenen toprakta yaşayan organizmalara madde alımı ve kütle aktarımı süreçlerini dikkate alır. Hem organik maddelerin hem de metallerin etki değerlendirmesinin pratik anlamı, gözlenen toksisite için toplam yükleme hızının değil, topraktaki bir maddenin yalnızca biyoyararlanımlı oranının belirleyici olduğunun gözlemlenmesidir.

Geçtiğimiz on yılda kapsamlı araştırma faaliyetlerine konu olmasına rağmen, topraktaki maddelerin biyoyararlanımını değerlendirmek için aslında genel bir yaklaşım yoktur. Temel zorluklar, farklılıklar ve toprak organizmaları ile ilgili maruz kalma yolları hakkındaki kısıtlı bilgiler ve biyoyararlanımın zamana bağlı olması gerçeğidir. İkinci olgu genellikle topraktaki maddelerin "yaşlanması" süreci olarak tanımlanır:

Artan soğurma, bağlanma ve toprak matriksine katılma nedeniyle, biyoyararlanım ve sonuç olarak toksisite zamanla değişir (çoğunlukla azalır). İklim koşulları ve arazi kullanımı gibi ek faktörler de biyoyararlanımı etkileyebilir. Bununla birlikte, mevcut toprak toksisite verilerini yorumlarken ve yeni çalışmaların tasarımında biyoyararlanım kritik bir şekilde dikkate alınmalıdır.

R.7.11.1.1 Amaç

Bu bölümde önerilen etki değerlendirme planının genel amacı, aşağıdakileri gerçekleştirmek amacıyla belirli maddelerin toprakta yaşayan organizmalara doğal toksik potansiyeli hakkında yeterli (yani güvenilir ve ilgili) bilgi toplamaktır:

- Toprak ortamına salındığında belirli bir maddeden en ilgili toprak organizması gruplarından hangisinin potansiyel olarak olumsuz etkilenebileceğini tespit etmek ve
- Toprak organizmaları üzerinde olumsuz etkilerin bekleneneceği maddeler için, endişe kaynağı olmayan kesin, bilimsel olarak güvenilir bir toprak üst eşik konsantrasyonu (Toprak için Öngörülen Etki Gözlemlenmeyen Konsantrasyon - PNEC_{toprak}) elde etmek.

Etki değerlendirmesi sırasında toplanan bilgilere ve ilgili toksisite verilerine dayanarak, belirli bir madde için PNEC_{toprak} değerinin türetilmesi, Bölüm [R.7.11.6.3](#)'ün akış şemasında sunulan genel zararlılık değerlendirme şemalarını takip eder. PNEC_{toprak} değerinin, ilgili emisyon senaryolarından toprak için beklenen ilgili Öngörülen Çevresel Konsantrasyon (PEC_{toprak}) ile karşılaştırılması, nihayet toprak ortamında yaşayan organizmalara yönelik riskle ilgili bir sonuca yol açacaktır (risk karakterizasyonu). Bir PEC/PNEC karşılaştırmasına dayalı olarak tanımlanan risk, daha gelişmiş bir risk değerlendirme ihtiyacını (PEC veya PNEC tarafında) veya - daha fazla geliştirme seçeneğinin olmadığı durumlarda - risk yönetimi kararlarına olan ihtiyacı gösterebilir.

R.7.11.2 Bilgi gereklilikleri

R.7.11.2.1 Standart bilgi gereklilikleri

KKDİK Madde 11, maddelerin kaydı ve değerlendirilmesi için sunulması gereken bilgileri belirtir. KKDİK Madde 13'de, bilgi gerekliliklerinin üretim hacmine (tonaj) bağlı olması durumu kademeli bir sistemde oluşturulmuştur ve bu, potansiyel maruz kalmanın hacimle birlikte arttığını gösterir.

KKDİK Yönetmeliği Ek 7-10, standart bilgi gerekliliklerini belirtir (sütun 1'de sunulmuştur). İlave olarak, uyarılma için özel kurallar (2. sütunda sunulmuştur) dahil edilmiştir. Bu ekler standart bilgi gerekliliklerini ortaya koyar, ancak standart yaklaşımdan farklılaşmaya izin veren KKDİK Ek 11 ile birlikte düşünülmelidir. KKDİK Ek 11, Ek 7 ile 10'da belirlenen standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanması için genel kuralları içerir.

Ayrıca, kayıt ettirenin KGD yürütürken KKDİK Ek 13'deki kriterlerin karşılanıp karşılanmadığına dair kesin bir sonuca varamadığı ve karasal (toprak) toksisitesi verilerinin PBT/vPvB değerlendirmesini daha ileri götüreceğini belirlediği durumlarda PBT / vPvB değerlendirmesi için veri oluşturulması gereklidir. Bu yükümlülük ≥ 10 ton/yıl miktarındaki tüm kayıtlar için geçerlidir (daha fazla ayrıntı için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#), Bölüm R.11).

Aşağıda belirtilenler, karasal (toprak) toksisite testiyle ilgili özel gereklilikleri temsil etmektedir:

Ek 7-10 bilgi gereklilikleri (sütun 1) ve standart bilgi gerekliliklerinin uyarlanması için kurallar (sütun 2)

a) Ek 7 (Kayıt tonajı > 1 ton/yıl - <10 ton/yıl)

Bu kayıt tonajında karasal etki testine gerek yoktur

b) Ek 8 (Kayıt tonajı > 10 ton/yıl)

Bu kayıt tonajında karasal etki testine gerek yoktur

c) Ek 9 (Kayıt tonajı > 100 ton/yıl)

Bu Ek'in 1. Sütunu, Madde 13 (1) (ç)'ye göre 100 ton veya daha fazla miktarda imal veya ithal edilen tüm maddeler için gerekli standart bilgileri belirler.

Sütun 1	Sütun 2
Gerekli Standart Bilgi	Sütun 1'den uyarlamaya ilişkin özel kurallar
9.2.3. Bozunma ürünlerinin tanımlanması	Madde kolay biyobozunur değilse
9.4. Karasal organizmalar üzerindeki etkiler	9.4. Toprak ortamı için doğrudan ve dolaylı maruz kalmanın mümkün olmaması nedeniyle bu çalışmaların gerçekleştirilmesine gerek yoktur Toprak organizmaları için toksisite verilerinin bulunmaması durumunda, toprak organizmalarının maruz kalmasını değerlendirmek için Denge Dağılım Yöntemi uygulanabilir. Uygun testlerin seçimi kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonuçlarına bağlıdır. Özellikle toprağa tutunma potansiyeli yüksek olan veya çok kalıcı olan maddeler için, kayıt ettiren kısa süreli yerine uzun süreli toksisite testi düşünülecektir.
9.4.1. Omurgasızlara kısa süreli toksisite	
9.4.2. Toprak mikroorganizmaları üzerindeki etkiler	
9.4.3. Bitkilere kısa süreli toksisite	

Bozunma ürünlerinin belirlenmesi ve/veya değerlendirilmesi

Bu veriler yalnızca Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesinin tamamlanabilmesi için birincil bozunmayı takiben bozunma ürünlerine ilişkin bilgilerin gerekli olduğu durumlarda gereklidir.

Sütun 2: "Madde kolay biyobozunur değilse"

Bu durumlarda, bu bozunma sırasında oluşan herhangi bir bozunma ürününün, daha fazla değerlendirme gerektirmeyecek kadar yeterince hızlı bir şekilde bozunacağı düşünülebilir.

Karasal organizmalar üzerindeki etkiler

Sütun 2: "Toprak ortamı için doğrudan ve dolaylı maruz kalmanın mümkün olmaması nedeniyle bu testlerin gerçekleştirilmesine gerek yoktur."

Toprağın maruz kalmadığı veya maruz kalmanın PEC_{yere} veya PEC_{bölgesel} veya PNEC_{toprak organizmaları} değerlerinin iyileştirilmesinin gerekli olmadığı kadar düşük olduğu durumlarda bu test gerekli olmayabilir. Genel olarak, maruz kalan AAT'lerden toprağa çamur uygulaması olmadığı ve havadan birikimin ihmal edilebilir olduğu ve sulama ve/veya kontamine atıkla temas gibi diğer maruz kalma yollarının ilgili olmadığı gösterilebildiği durumlar hariç olmak üzere, toprak maruz kalmasının meydana geleceği varsayılır.

Doğrudan toprağa uygulanmayan kolay biyobozunur maddeler söz konusu olduğunda, genellikle maddenin karasal ortama girmeyeceği varsayılır ve bu nedenle toprak organizmalarının test edilmesine gerek yoktur. Ayrıca, AAT çamuru yoluyla maruz kalma yolu ile ilgili diğer parametreler (örn. düşük log K_{oc}/P_{ow}) dikkate alınmalıdır. Havada birikim durumunda, ışık kararlılığı, buhar basıncı, uçuculuk, hidroliz vb. gibi diğer hususlar da dikkate alınmalıdır.

Sütun 2: "Toprak organizmaları için toksisite verilerinin bulunmadığı durumlarda, Denge Dağılım Yöntemi toprak organizmalarına yönelik zararlılığı değerlendirmek için uygulanabilir. Uygun testlerin seçimi kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonuçlarına bağlıdır."

İlk durumda, yeni karasal etkiler testi yapılmadan önce, Denge Dağılım kullanılarak PNEC_{su} değerinden bir PNEC_{toprak} değeri hesaplanabilir. Bu karşılaştırmanın sonuçları Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesine dahil edilebilir ve standart bilgi gerekliliklerinde ayrıntıları verilen karasal organizmalardan herhangi birinin test edilmesi gerektiğini belirlemeye yardımcı olabilir.

Sütun 2: "Özellikle toprağa tutunma potansiyeli yüksek olan veya çok kalıcı olan maddeler için, kayıt ettiren kısa süreli yerine uzun süreli toksisite testi düşünülecektir."

Toprağa dağılım potansiyeli yüksek olan ve dolayısıyla yüksek konsantrasyonlara ulaşabilen veya kalıcı olan maddeler gibi bazı maddeler, özellikle toprak için endişe yaratır. Her iki durumda da, karasal organizmaların uzun süreli maruz kalması mümkündür ve kayıt ettiren, Ek 10'da tanımlanan uzun süreli karasal etkiler testinin daha uygun olup olmadığını değerlendirmelidir. Bu, Bölüm [R.7.11.6](#)'daki bütünleşik test stratejisinde daha ayrıntılı olarak ele alınmaktadır.

d) Ek 10 (Kayıt tonajı > 1000 ton/yıl)

Bu Ek'in 1. Sütunu, Madde 13(1)(e) uyarınca 1000 ton veya üzeri miktarda imal veya ithal edilen tüm maddeler için gerekli standart bilgileri belirler. Buna göre, bu Ek'in 1. sütununda gerekli olan bilgiler Ek 9'un 1. sütununda gerekli olan bilgilere ilavedir.

Sütun 1	Sütun 2
Gerekli Standart Bilgi	Sütun 1'den uyarlamaya ilişkin özel kurallar
9.4. Karasal organizmalar üzerindeki etkiler	9.4. Ek 1'e göre kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonuçları, maddenin ve/veya bozunma ürünlerinin karasal organizmalar üzerindeki etkilerinin daha fazla araştırılması gerektiğini gösteriyorsa, kayıt ettiren tarafından uzun süreli toksisite testi önerilecektir. Uygun testlerin seçimi, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonucuna bağlıdır. Toprak ortamı için doğrudan ve dolaylı maruz kalmanın mümkün olmaması nedeniyle bu çalışmaların gerçekleştirilmesine gerek yoktur
9.4.4. Ek 9 gerekliliklerinin bir parçası olarak halihazırda sağlanmadıkça, omurgasızlar üzerinde uzun süreli toksisite testleri.	
9.4.6. Ek 9 gerekliliklerinin bir parçası olarak halihazırda sağlanmadıkça, bitkiler üzerinde uzun süreli toksisite testleri.	

Karasal organizmalar üzerindeki etkiler

Sütun 2: "Toprak ortamının doğrudan ve dolaylı olarak maruz kalması olası değilse, bu testlerin yapılmasına gerek yoktur."

Toprağın maruz kalmadığı veya maruz kalmanın PEC_{yerel} veya PEC_{bölgesel} veya PNEC_{toprak organizmaları} değerlerinin iyileştirilmesinin gerekli olmadığı kadar düşük olduğu durumlarda bu test gerekli olmayabilir. Genel olarak, maruz kalan AAT'lerden toprağa çamur uygulaması olmadığı ve havadan birikimin ihmal edilebilir olduğu ve sulama ve/veya kontamine atıkla temas gibi diğer maruz kalma yollarının ilgili olmadığı gösterilebildiği durumlar hariç olmak üzere, toprak maruz kalmasının meydana geleceği varsayılır.

Doğrudan toprağa uygulanmayan kolay biyobozunur maddeler söz konusu olduğunda, genellikle maddenin karasal ortama girmeyeceği varsayılır ve bu nedenle toprak organizmalarının test edilmesine gerek yoktur.

Sütun 2: "Ek I'e göre kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonuçları, maddenin ve/veya bozunma ürünlerinin toprak organizmaları üzerindeki etkilerinin daha fazla araştırılması ihtiyacını gösteriyorsa, kayıt ettiren tarafından uzun süreli toksisite testi önerilecektir. Uygun testlerin seçimi, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin sonucuna bağlıdır."

PNEC_{toprak} değerinin düzeltilmesine gerek kalmayacak şekilde, toprak ortamı için kimyasal güvenlik değerlendirmesinde tanımlanan herhangi bir risk yoksa, bu testlerin önerilmesine gerek yoktur.

Karasal organizmalara toksisite hakkında daha fazla bilginin gerekli olduğu durumlarda, ya madde üzerinde ya da herhangi bir bozunma ürünü üzerindeki testlerin sayısı ve türü, kimyasal güvenlik değerlendirmesi ve PNEC_{toprak} değerinde yapılacak gerekli düzeltmenin kapsamı ile belirlenecektir.

PBT/vPvB değerlendirmesi

PBT/vPvB değerlendirmesi bağlamında, kayıt ettirenin ilgili mevcut bilgileri kullanarak PBT/vPvB değerlendirmesinde (i) ("Madde PBT ve vPvB kriterlerini karşılamamaktadır") veya (ii) ("Madde, PBT veya vPvB kriterlerini karşılamaktadır") şeklinde kesin bir sonuca varamaması durumunda, KKDİK Yönetmeliği, Ek 13, Bölüm 2.1 uyarınca tonaj bandından bağımsız olarak bu sonuçlardan birine varmak için gerekli bilgileri üretmelidir (daha fazla ayrıntı için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.11). Böyle bir durumda, test gerçekleştirmekten veya diğer gerekli bilgileri oluşturmaktan kaçınmanın tek yolu, maddeyi "PBT veya vPvB gibi" ele almaktır (ayrıntılar için bkz. [BG ve KGD Rehberi](#) Bölüm R.11).

R.7.11.3 Bilgiler ve kaynakları

Karasal maruz kalma ve ardından toprak organizmalarına toksisiteyi değerlendirirken farklı bilgi türleri geçerlidir. Yararlı bilgiler, maddelerin ve test sistemlerinin kimyasal ve fiziksel özellikleri ile mevcut test verilerini (*in vitro* ve *in vivo*) ve Denge Dağılım Yöntemi gibi test dışı yöntemlerin sonuçlarını içerir. Karasal veriler dahil ekotoksosite veri kaynakları Bölüm R3'te listelenmiştir. İlave yararlı veritabanları arasında ABD EPA ECOTOX veritabanı (<http://cfpub.epa.gov/ecotox/>) ve yüksek hacimli kimyasallar için OECD Tarama Bilgileri Veri Seti (SIDS) (<http://www.chem.unep.ch/irptc/sids/oecdsids/indexchemic.htm>) bulunur.

Test maddesiyle ilgili fiziksel ve kimyasal veriler, deneysel tasarıma yardımcı olabilir ve ilgilenilen sonlanma noktası hakkında bilgi sağlayabilir. Yapısal formül, saflık, suda çözünürlük, n-oktanol/su dağılım katsayısı (log K_{ow}), toprak soğurma davranışı, buhar basıncı, suda ve ışıktaki kimyasal kararlılık ve biyobozunurluk bilgileri, toprak testini tasarlamak ve maddeye beklenen maruz kalma yolunu belirlemek için kullanışlıdır.

R.7.11.3.1 Laboratuvar verileri

Test dışı veriler

Çoğu madde için sınırlı karasal toksisite verisi mevcuttur. Karasal verilerin bulunmaması durumunda, seçeneklerden biri Q(SAR) tahminleri oluşturmaktır. (Q)SAR kullanımına ilişkin genel rehberlik Bölüm R.4.3.2.1'de ve özellikle Bölüm R.7.8'de sucül (pelajik) toksisite için verilmiştir. Ancak, şu anda toprak ekotoksikolojisi için iyi karakterize edilmiş Q(SAR) bulunmamaktadır. Örneğin, toprak solucanları için birkaç Q(SAR) mevcuttur, ancak bunlar tam olarak doğrulanmamıştır (Van Gestel ve ark., 1990). Bu nedenle, Q(SAR) kullanan karasal sonlanma noktası tahminleri dikkatlice değerlendirilmeli ve yalnızca *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının bir parçası olarak kullanılmalıdır (bkz. [Şekil R.7.11-1](#)).

Benzer kimyasal yapılara sahip maddelerin benzer bir etki şekline sahip olmaları hipotezi üzerine gruplandırılması, geçmişte test dışı veriler sağlamak için kullanılmış bir yöntemdir. Temel fikir, (yapısal açıdan benzer) grup içindeki bir madde için (test-) etki verileri mevcut olduğunda, bunların aynı gruptaki diğer maddelerin toksisitesini "tahmin etmek" için kullanılabilir. Bu yöntem, poliklorlu bifenil (PCB) ve polisiklik aromatik hidrokarbonlar (PAH) için başarıyla kullanılmıştır.

Diğer bir seçenek, sucul organizmalar üzerinde etkilere neden olanlardan karasal etkilere neden olan konsantrasyonları tahmin etmektir. Denge dağılım teorisi, gözenek suyunda kolay çözünen madde konsantrasyonu cinsinden ifade edilen toprak toksisitesinin, sucul toksisite ile aynı olduğu varsayımına dayanır. Denge dağılım yönteminin nasıl kullanılacağına dair daha fazla rehberlik Bölüm R.10.6.1'de ve Bölüm [R.7.11.6](#)'daki BTS içerisinde verilmiştir.

Test verileri

İn vitro veriler

Şu anda standartlaştırılmış test yöntemleri bulunmamaktadır, ancak karasal sonlanma noktası verilerini oluşturmak için kullanılmış olabilecek bir dizi *in vitro* toprak testi vardır ve bu bilgiler *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının bir parçası olarak kullanılabilir (bkz. [Şekil R.7.11-1](#)). *İn vitro* tekniklerin yararlı bir incelemesi CEH raporunda, "Karasal ekosistemlerde zararı ölçmek için öldürücü olmayan ekotoksikolojik testlerin gözden geçirilmesi" (Spurgeon ve ark., 2004) bölümünde sunulmuştur.

İn vivo veriler

Resmi olarak kabul görmüş OECD ve ISO test rehberleri, uluslararası kabul görmüş test yöntemleridir ve bu nedenle ideal olarak risk değerlendirmeleri için veri oluşturmak üzere takip edilmelidir. Maddelerin toprak organizmaları üzerindeki toksisitesini test etmek için önerilen OECD ve ISO standart test rehberleri hakkında bu bölümde daha fazla ayrıntı verilmiştir.

Bununla birlikte, karasal sonlanma noktası verilerini oluşturmak için de kullanılabilen bir dizi başka standart ve standart dışı test mevcuttur. [Ek R.7.11-1](#), şu anda geliştirilmekte olan birkaç test yöntemi dahil olmak üzere karasal test metodolojilerinin ayrıntılı bir listesini içerir. Standart dışı metodolojilerden elde edilen verilerin güvenilirliği, yeterliliği, uygunluğu ve eksiksizliği açısından değerlendirilmesi gerekecektir.

OECD ve ISO Test Rehberleri

i) Mikrobiyal Analizler

Mikroorganizmalar, verimli topraklarda organik maddenin parçalanması ve dönüştürülmesinde önemli bir rol oynar ve birçok tür, toprak verimliliğinin farklı yönlerine katkıda bulunur. Bu nedenle, bu biyokimyasal süreçlere herhangi bir uzun süreli müdahale, potansiyel olarak besin döngüsünü bozabilir ve bu, toprak verimliliğini değiştirebilir. Bu testlerden elde edilen NOEC/ECx, mikrobiyal popülasyonlar için uzun süreli bir sonuç olarak düşünülebilir.

Toprak Mikro-organizmaları, Azot Dönüşüm Testi - OECD 216 (OECD, 2000a); ISO 14238 (ISO, 1997a)

Toprak Mikro-organizmaları, Karbon Dönüşüm Testi - OECD 217 (OECD, 2000b); ISO 14239 (ISO, 1997b)

Karbon ve azot dönüşüm testlerinin her ikisi de, bir maddenin aerobik topraklarda karbon veya nitrojen dönüşümü süreci üzerindeki uzun süreli olumsuz etkilerini en az 28 gün boyunca belirlemek için tasarlanmıştır.

Tarım dışı kimyasalların çoğu için, nitrat dönüşümü karbon-azot bağlarının bozunmasının ardından gerçekleştiğinden, azot dönüşüm testi yeterli kabul edilir. Bu nedenle, kimyasal uygulanmış topraklar ve kontrol topraklarında eşit oranlarda nitrat üretimi bulunursa, büyük olasılıkla ana karbon bozunması yollarının sağlam ve işlevsel olması muhtemeldir.

Diğer ISO standardı metodolojileri de mevcuttur, ancak karşılık gelen OECD rehberi bulunmadığından, bu yöntemler yukarıda bahsedilen 2 mikrobiyal testten daha az yaygın olarak kullanılmaktadır.

Potansiyel nitrifikasyonun belirlenmesi, amonyum oksitlenmesi ile hızlı bir test - ISO 5685 (ISO, 2004a)

Amonyum oksitlenmesi, toprakta ototrofik nitrifikasyonun ilk adımıdır. Yöntem, 6 saatlik kısa bir inkübasyon süresi boyunca nitrit birikimi ile değerlendirilen nitrifikasyon popülasyonunun potansiyel aktivitesinin ölçümüne dayanmaktadır. Yöntem, nitrifikasyon popülasyonunun büyümesini değerlendirmez. İnhibe edici dozlar hesaplanır.

Solunum eğrileri kullanılarak toprak mikro florasının bolluğunun ve aktivitesinin belirlenmesi - ISO 17155 (ISO, 2002)

Bu yöntem, solunum hızı (CO₂ üretimi veya O₂ tüketimi) ölçülerek maddelerin toprak mikrobiyal aktivitesi üzerindeki etkisini değerlendirmek için kullanılır. Madde mikro florayı öldürebilir, aktivitesini azaltabilir, canlılığını artırabilir veya etkisiz olabilir (çünkü maddelerin toksisitesi düşüktür veya bazı türlerin yerini daha dirençli olanlar alır). EC10/NOEC ve EC50, toksisite gözlemlendiğinde belirlenir.

ii) Omurgasız Analizleri

Toprak solucanı akut toksisite testi - OECD 207 (OECD, 1984); ISO 11268-1 (ISO, 1993)

Test, maddelerin toprak solucanlarının (*Eisenia* spp.) hayatta kalması üzerindeki etkisini değerlendirmek için tasarlanmıştır. OECD rehberi filtre kağıdı temas testinin ayrıntılarını sağlasa da, yapay toprak yöntemi, toprak solucanlarının maddelere doğal maruz kalmasını çok daha iyi temsil eden verileri önemli ölçüde daha fazla kaynak gerektirmeden verdiği için, bu yalnızca bir tarama testi olarak kullanılmalıdır. Mortalite ve biyokütle üzerindeki etkiler, 2 haftalık maruz kalmadan sonra belirlenir ve bu veriler, ortalama öldürücü konsantrasyonu (LC50) belirlemek için kullanılır. *Eisenia* spp. organik maddelerce zengin toprakta oluşma eğiliminde olduklarından tipik toprak türleri değildir, maddelere hassasiyetinin toprak faunası ve toprak solucanı türlerini temsil ettiği düşünülmektedir. *Eisenia* spp. aynı zamanda kısa yaşam döngüsü bulunduğu için laboratuvar koşullarında kültüre alınması nispeten kolaydır ve ticari olarak satın alınabilir.

Toprak solucanı üreme testi - OECD 222 (OECD, 2004a); ISO 11268-2 (ISO, 1998)

Maddelerin yetişkin kompost solucanlarının (*Eisenia* spp.) üremesine etkileri, 8 haftalık bir süre içinde değerlendirilir. Yetişkin solucanlar, toprağa karıştırılan çeşitli konsantrasyonlarda test maddesine maruz kalır. Test konsantrasyonlarının aralığı, hem öldürücü olmayan hem de öldürücü etkilere neden olması muhtemel olanları kapsayacak şekilde seçilir.

Yetişkin solucanlar üzerindeki ölüm oranı ve büyüme etkileri 4 haftalık maruz kalmadan sonra belirlenir ve üreme üzerindeki etkiler 4 hafta sonra toprakta bulunan yavru sayısı sayılarak değerlendirilir. NOEC/EC_x, test maddesine maruz kalan solucanların üreme çıktılarının kontrol ile karşılaştırılmasıyla belirlenir.

Enchytraeid üreme testi - OECD 220 (OECD, 2004b); ISO 16387 (ISO, 2004b)

Enchytraeid geniş bir toprak yelpazesinde ortaya çıkan toprakta yaşayan bir organizmadır ve laboratuvar testlerinde, yarı saha ve saha çalışmalarında kullanılabilir. OECD rehberi, kullanımı ve yetiştirilmesi kolay olan ve üreme süreleri toprak solucanlarından önemli ölçüde daha kısa olan *Enchytraeus albidus*'un kullanılmasını önermektedir. Testin ilkesi, toprak solucanı üreme testi ile aynıdır: yetişkin solucanlar, toprağa karıştırılmış çeşitli konsantrasyonlarda test maddesine maruz bırakılır. Üreme testinin süresi 6 haftadır ve yetişkinlerdeki ölüm oranı ve morfolojik değişiklikler 3 hafta maruz kalmadan sonra belirlenir. Daha sonra yetişkinler çıkarılır ve topraktaki kozalardan çıkan yavru sayısı, 3 haftalık ek maruz kalmadan sonra sayılır. NOEC/EC_x, test maddesine maruz kalan solucanların üreme çıktıları ile kontrol solucanlarının üreme çıktılarıyla karşılaştırılmasıyla belirlenir.

Collembola (Folsomia candida) üreme inhibisyonu - ISO 11267 (ISO, 1999a)

Sıçrar kuyruklular (*Collembola*), karasal ekosistemlerde en çok ve en yaygın görülen böceklerdir. Bu, çevresel kirleticilerin etkilerini tespit etmek için biyogöstergeler ve test organizmaları olarak yaygın şekilde kullanılmalarının ana nedenlerinden biridir. ISO rehberi, eşeysiz üreme yoluyla çoğalan ve esas olarak saksı bitkileri ve kompost yığınları gibi organik madde yönünden zengin yaşam ortamlarında (habitat) bulunan *Folsomia candida*'nın kullanılmasını önermektedir. Maruz kalma ortamı olarak işlenmiş yapay toprak kullanılır ve 21 gün sonra hayatta kalma ve yavru üretimi için NOEC/EC_x belirlenir.

iii) Bitki Analizleri

Aritma çamuru yoluyla uygulanması muhtemel endüstriyel maddeler için kullanılacak bitkilere ilişkin en uygun standart metodoloji, fide çıkışı ve fide büyümesini değerlendiren OECD 208 (OECD, 2006a) rehberidir. İkinci standart yöntem OECD 227 (OECD, 2006b), bitkilerin yapraklarında ve yer üstü kısımlarında ve havada birikim yoluyla birikmesi muhtemel maddeler için daha uygundur. Ayrıca, daha yüksek bitkilerin kronik toksisitesini değerlendiren yeni bir ISO test rehberi ISO 22030 (ISO, 2005a) bulunmaktadır.

Karasal Bitki Testi: Fide çıkışı ve fide büyüme testi) - OECD 208 (OECD 2006a); ISO 11269-2(ISO, 2005b)

Güncellenmiş OECD rehberi, maddelerin fide çıkışı ve büyümesi üzerindeki potansiyel etkilerini değerlendirmek için tasarlanmıştır. Bu nedenle, bitkinin yaşam döngüsünün bir kısmına özgüdür ve üreme üzerindeki kronik etkileri veya etkileri kapsamaz, ancak bitkinin yaşam döngüsündeki hassas bir aşamayı kapsadığı varsayılır ve bu nedenle bu çalışmadan elde edilen veriler kronik toksisite tahminleri olarak kullanılmıştır.

Tohumlar, test maddesi uygulanmış toprakla temas ettirilir ve kontrol grubundaki fidelerin %50 çıkmasından sonra, genellikle 14 ila 21 gün sonra etkiler açısından değerlendirilir. Ölçülen sonlanma noktaları, fide çıkışının, kuru sürgün ağırlığının (alternatif olarak yaş sürgün ağırlığı) ve bazı durumlarda sürgün yüksekliğinin görsel değerlendirmesi ile bitkinin farklı kısımları üzerindeki görünür zararlı etkilerin bir değerlendirmesidir. Bu ölçümler ve gözlemler, EC50 ve NOEC/EC10 belirlemek için kimyasal uygulanmamış kontrol bitkilerinininkilerle karşılaştırılır.

Karasal bitki testi: Bitkisel canlılık testi – OECD 227 (OEC, 2006b)

Bu rehber, test maddesinin bitkilerin yapraklarında ve yer üstündeki kısımlarında birikmesini takiben bitkiler üzerindeki potansiyel etkilerini değerlendirmek için tasarlanmıştır. Bitkiler genellikle tohumdan 2-4 gerçek yaprak aşamasına kadar büyütülür. Test maddesi daha sonra bitki ve yaprak yüzeyine uygun oranda püskürtülür. Uygulamadan sonra, bitkiler, uygulamadan sonraki 21-28 gün boyunca çeşitli zaman aralıklarında canlılık ve büyüme üzerindeki etkiler açısından kimyasal uygulanmamış kontrol bitkilerine karşı değerlendirilir. Sonlanma noktaları kuru veya yaş sürgün ağırlığı, bazı durumlarda sürgün yüksekliği ve bitkinin farklı kısımları üzerindeki görünür zararlı etkilerin bir değerlendirmesidir. Bu ölçümler, kimyasal uygulanmamış kontrol bitkileriyle karşılaştırılır.

Toprak Kalitesi - Biyolojik Yöntemler - Daha yüksek bitkilerde kronik toksisite - ISO 22030 (ISO, 2005a)

Bu ISO test rehberi, kontrollü koşullar altında toprak ile yüksek bitkilerin büyümesinin ve üreme kapasitesinin inhibisyonunun belirlenmesi amaçlı bir yöntemi açıklar. Hızlı döngülü bir şalgam çeşidi (*Brassica rapa*) ve yulaf (*Avena sativa*) olmak üzere iki tür tavsiye edilir. Testlerin süresi, bir kontrol grubuna kıyasla test bitkilerinin üreme kapasitesini tanımlayan kronik sonlanma noktaları içerecek şekilde yeterli ölçüde tasarlanmıştır. Maddelerin kronik toksisitesi, standart kontrol topraklarında test maddesinin bir seyreltme serisi hazırlanarak ölçülebilir.

R.7.11.3.2 (yarı-) Saha verileri

Saha testleri, bir gerçekçilik unsuru sağlayan ancak aynı zamanda yorumlamada karmaşıklık ekleyen daha yüksek kademeli çalışmalardır. Karasal saha ekosistemlerindeki maddelerin ekotoksikolojik zararlılık potansiyelini değerlendirmek için çok az sayıda standartlaştırılmış yöntem vardır. Sıklıkla kullanılan bu tür bir rehberine örnek olarak, saha koşullarında kirleticilerin toprak solucanları üzerindeki etkilerinin belirlenmesi için ISO 11268-3 rehberi verilebilir (ISO, 1999b). Bu yaklaşım, belirli bir tür veya tür grubu için popülasyon büyüklüğü ve biyokütle üzerindeki etkileri değerlendirmeyi amaçlamaktadır ve bu tür çalışmaların yürütülmesini özetleyen bir rehber vardır (de Jong ve ark. 2006).

Gnotobiyotik laboratuvar testleri

Gnotobiyotik laboratuvar testleri nispeten tek tür testine benzer ve kontrollü koşullar altında yürütülür. Genellikle laboratuvar kültürlerinden veya sahada yakalanan birkaç tür (2-5) yapay veya (genellikle elenmiş) saha toprağında birlikte maruz kalır.

Son zamanlarda, laboratuvar testleri ve karasal model ekosistemleri arasındaki karmaşıklık aralıklarında değişen Ohio tipi mikrokozmu (Edwards ve ark., 1998) adı verilen bir gnotobiyotik sistemle çok fazla çalışma yapılmıştır (CSTEE, 2000).

Karasal mikrokozmlar/mezokozmlar

Karasal mikrokozmlar/mezokozmlar, davranış ve etki parametrelerinin aynı anda ve daha gerçekçi saha koşulları altında incelendiği bütüncü test yöntemleri olarak kullanılabilir. Karasal Model Ekosistemi (TME), standartlaştırılmış bir rehberle sahip tek çok türlü testtir (ASTM, 1993). Karasal model ekosistemleri çoğaltılabilecek kadar küçüktür, ancak toprak organizmalarını uzun süre sürdürmek için yeterince büyüktür (Römbke ve ark., 1994). Karasal model ekosistemleri, genellikle tek tür testleri ile mümkün olmayan ekosistem yapısı ve işlevi üzerindeki etkileri ele almak için kullanılabilir. Karasal model ekosistemlerinin çalışmaları laboratuvar ortamında yürütüldüğünde, tarla sahasından çıkarılan bozulmamış toprak çekirdeklerini kullanır ve bu nedenle doğal toprak topluluklarını içerir. Bu iç ortam karasal model ekosistemlerinin çevresel uygunluk derecesi, bu nedenle laboratuvar ve saha çalışmaları arasında orta düzeydedir.

Tipik olarak, bir alıştırma döneminden sonra, karasal model ekosistemlerinde 4-8 tekrara test maddesinin artan konsantrasyonları uygulanır veya kontroller uygulama yapılmadan bırakılır. Daha sonra yapısal (bitki biyokütlesi, omurgasız popülasyonları) veya işlevsel (ölü örtü bozunması, mikrobiyal aktivite) parametreler için aralıklarla numune alınır. Böyle bir yaklaşım, sahadaki etkilerle bir bağlantı sağlayabilir, ancak daha kontrollü koşullar altındadır (Knacker ve ark., 2004). TME verilerinin istatistiksel analizi, ölçülen sonlanma noktalarının sayısına ve birbiriyle ilişkisine bağlıdır. Ölçülen çok sayıda sonlanma noktası varsa, tüm sistem için tek bir etki eşik değeri elde etmek üzere çok değişkenli bir analiz uygun olabilir. Bir karasal model ekosisteminde elde edilen verilerin karmaşıklığından dolayı, bu çalışmalardan sonlanma noktaları oluşturmak için standart bir "her şeye uygun" istatistiksel yöntem sağlanamaz.

Uzman değerlendirmesi gereklidir.

Saha Çalışmaları

Halihazırda, birden çok tür için maddelerin zararlılık potansiyelini değerlendirmek üzere saha çalışmaları tasarlamak amacıyla standartlaştırılmış test yöntemleri bulunmamaktadır. Bu saha çalışması metodolojisi, belirli bir madde için özel olarak tasarlanmış testler olma eğilimindedir ve yeniden üretilmesi zordur. Doz cevap ilişkileri genellikle bulunmaz (CSTEE, 2000). Ancak saha çalışmaları, doğal iklim koşullarında bir maddenin toprak işlevi ve yapısı üzerindeki etkisinin en doğru değerlendirmesidir.

R.7.11.4 Belirli bir madde için mevcut bilgilerin değerlendirilmesi

Mevcut ilgili toprak organizması verileri çeşitli kaynaklardan elde edilebilir. 91/414/EEC sayılı Konsey Direktifi ve 93/793 sayılı Konsey Tüzüğü (EEC) uyarınca risk değerlendirmelerinde kullanılan verilerin yüksek kalitede olduğu ve diğer kaynaklardan elde edilen verilere göre tercih edildiği düşünülmektedir. Bir sonraki en yüksek kaliteli kategori, iyi kanıtlanmış ve belgelenmiş verilerdir. Bu veriler, örneğin test koşulları, test edilen türler, test süresi, incelenen sonlanma noktaları, referansların kesin bir tanımını içermeli, tercihen İyi Laboratuvar Uygulamaları ilkelerine göre yürütülmeli ve sağlanan verilerin neden kullanılması gerektiğine dair bir gerekçe içermelidir. Daha düşük önceliğe sahip diğer veriler, yayınlanmış literatüründen ve kamuya açık veritabanlarından alınan verilerden sağlanabilir.

R.7.11.4.1 Laboratuvar verilerinin değerlendirilmesi

Test dışı veriler

Tercihen, PNEC değerleri, değerlendirilen madde için testler kullanılarak türetilmelidir, ancak bu tür veriler her zaman mevcut değildir. Veriler, benzer maddelerden elde edilen bilgilere dayalı olarak ekstrapolasyon yoluyla elde edilebiliyorsa (örn. QSAR veya SAR modellerini kullanarak), bunlar destekleyici kanıt olarak ve daha ileri testlere nasıl devam edileceği konusunda tavsiye olarak kullanılabilir. Karasal ekosistemler için (Q)SAR modellerine ilişkin OECD veya ISO rehberleri yoktur, ancak bazı basit modeller açık literatürde yayınlanmıştır (örn. van Gestel ve Ma (1992), Xu ve ark. (2000), Wang ve ark. (2000) ve Sverdrup ve ark. (2002)). Genel olarak, modeller benzer maddelerden alınan bilgilere dayanarak bir madde için çok az toksisite gösteriyorsa, bu daha az test anlamına gelebilir; bu durumlarda uzman görüşü gereklidir.

Karasal veri mevcut değilse, Denge Dağılım Yöntemi kullanılarak mevcut sucul toksisite verilerinden çapraz okuma destekleyici kanıt olarak kabul edilebilir. Belirli bir sucul organizma grubunun diğer gruplardan daha hassas olduğuna dair bir gösterge varsa, örneğin sucul bitkiler Dafniyadan daha düşük bir EC50 değeri gösteriyorsa, karasal bitkilerin daha fazla test edilmesi en uygun yöntem olabilir. Sucul test karasal sistemdekiyle aynı tür gruplarını kapsamadığından dikkatli olunmalıdır.

Daha kapsamlı modelleme için Bölüm R.6.1 ve R.6.2'de açıklanan rehber izlenmelidir.

Test verileri

Test organizmaları

Genel olarak öncelik, OECD ve ISO rehberlerinde belirtilen test organizmalarına verilir. Diğer resmi ve uzman incelemesinden geçmiş rehberlere (örn. ASTM) göre test edilen türler de kullanılabilir, ancak bunların ilgisi incelenmelidir.

Standart dışı türler de kabul edilebilir. Bununla birlikte, standart çalışmaların yokluğunda bunlar PNEC türetmede kullanılırken, test türlerinin uygun şekilde tanımlandığı ve karakterize edildiği ve test yönteminin uygun olduğu ve kritik noktalarda standart rehberlere uygun olduğu doğrulanmalıdır. Örneğin, kontrol hayvanlarının iyileşmesi veya kontrolde hayatta kalma, test sonuçlarında maksimum değişkenlik seviyesi, maruz kalma süresi, incelenen sonlanma noktaları, resmi test rehberinde belirtilenlere uygun olmalıdır. Genel olarak, resmi rehberlere göre seçilen test türleri için açıklananla aynı kriterler uygulanmalıdır.

Test türleri ideal olarak topraktaki farklı yaşam ortamlarını ve beslenme şekillerini ve farklı taksonomik grupları kapsamalıdır. Güçlü şekilde yüzeye tutunan veya bağlayıcı maddeler için, toprak tanecikleriyle beslenen toprakta yaşayan organizmalar (örn. toprak solucanları) en çok ilgiyi gösterir.

Bununla birlikte, belirli bir madde için bilinen belirli bir etki şekli de, test türlerinin seçimini etkileyebilir (örneğin, eklembecaklılar üzerinde belirli etkilere sahip olduğundan şüphelenilen maddeler için, sıçrar kuyruklular üzerindeki bir test, diğer taksonomik gruplar üzerindeki testlerden daha uygundur) .

Bir türün ilgi düzeyine ilişkin bir endişe ortaya çıkarsa, o zaman bir uzmana danışılmalıdır.

Sonlanma noktaları

Genel olarak, özel bir etki şekli bilinmediği sürece, OECD ve ISO rehberlerinde belirtilen test sonlanma noktalarına öncelik verilir. Diğer resmi ve uzman incelemesinden geçmiş rehberler (örn. ASTM) kapsamındaki sonlanma noktaları da kullanılabilir, ancak bunların ilgi düzeyi dikkate alınmalıdır.

Standart dışı sonlanma noktaları da kabul edilebilir. Ancak, bunlar ekolojik uygunluk açısından değerlendirilmeli ve sonlanma noktasının uygun olmasını ve kritik noktalarda rehberlere uymasını sağlamak için uygun şekilde tanımlanmalı ve karakterize edilmelidir. Örneğin, rehber bir tür için uzun süreli maruz kalmadan sonra öldürücü olmayan sonlanma noktaları gerektiriyorsa, ilgili standart dışı sonlanma noktası öldürücülük düzeyinin altında olmalıdır ve standart test rehberinde belirtilen genel ana hatlara uygun olmalıdır. Standart dışı sonlanma noktaları standart sonlanma noktalarından çok farklıysa, bunlar bilimsel olarak gerekçelendirilmelidir. Örneğin, bir sonlanma noktası özellikle hassas olabilir veya söz konusu madde için etki şeklini hedef alabilir. Davranışsal cevaplar gibi tarama sonlanma noktaları, yani kaçınma testi tek başına yorumlanmamalıdır. Güvenilirlik kriterleri, örn. standart dışı sonlanma noktalarının belirsizliği, standart sonlanma noktalarıyla uyumlu olmalıdır.

Bir türün ilgi düzeyine ilişkin bir endişe ortaya çıkarsa, o zaman bir uzmana danışılmalıdır.

Maruz kalma yolları

Genel olarak, maruz kalma yolu, özel yollar düşünülmediği sürece OECD ve ISO rehberlerinde belirtildiği gibi olmalıdır.

Standart dışı testler de kabul edilebilir. Standart dışı veriler mevcutsa, test maddesinin özelliklerinin seçilen maruz kalma yolunu bilimsel olarak doğrulayıp doğrulamadığı dikkate alınmalıdır. Maruz kalma yolu kısmen maddenin fiziko-kimyasal yapısına bağlıdır ve ayrıca test organizmasının türe özel yaşam stratejisinden etkilenir. Kuvvetli bir şekilde yüzeye tutunan veya bağlayıcı maddeler için, bu maddeler için muhtemelen en uygun maruz kalma yolu olduğundan, yutma veya güçlü toprak parçacığı teması yoluyla maruz kalmayı kapsayan test tasarımları ve test organizmaları tercih edilmelidir. Bölüm [R.7.11.3](#)'te bahsedildiği gibi, bazı standart test metodolojileri gıda maruz kalması olan türleri içerir (toprak solucanı üremesi, Enchytraeid ve Collembola), diğerleri ise sadece temas yoluyla maruz kalmaya sahiptir.

Maruz kalma rejimiyle ilgili bir endişe ortaya çıkarsa, bir uzmana danışılmalıdır.

Topraklar ve yapay toprakların bileşimi

Genel olarak, özel koşullar dikkate alınmadıkça, etki testlerindeki topraklar OECD ve ISO rehberlerinde belirtildiği gibi seçilmelidir.

Standart dışı topraklar da kabul edilebilir. Topraklar için, toprak türünün bileşimi ve seçimi, birçok maddenin toksisitesi üzerinde çok büyük bir etkiye sahiptir. Bu nedenle, standart olmayan topraklar kullanılıyorsa, seçilen toprağın test edilen madde için gerçekçi bir en kötü durum senaryosunu temsil edip etmediği dikkate alınmalıdır. Çoğu madde için, toksisitenin toprak parametrelerine nasıl bağlı olduğu konusunda ayrıntılı bilgi eksikliği vardır; bu nedenle, mevcut verilerin güvenilirliğini yalnızca köken/coğrafyaya dayalı olarak değerlendirmek için çok az neden bulunur.

Genel olarak, topraktaki maddelerin biyoyararlanımını yönlendiren ana parametreler kil ve organik madde (OM) içeriği, Katyon Değişim Kapasitesi (CEC) ve pH seviyesidir. Birçok metal için katyon değişim kapasitesi ve pH seviyesinin ana itici güçler olduğu gösterilmişken, polar olmayan organikler için organik madde içeriğinin önemli olduğu gösterilmiştir. Standart dışı yapay toprak için, organik madde kaynağı da sonucu büyük ölçüde etkileyebilir. Bu nedenle, toprak parametrelerinden biri, örneğin katyon değişim kapasitesi veya pH, rehberde veya söz konusu yaşam ortamında belirtilenlerden çok farklıysa, bu durumda bu türetmenin önemi konusunda bilimsel bir gerekçe sunulmalıdır. Kalıntı kirleticiler genellikle suni substratlarda mevcut değildir, ancak test için doğal topraklar kullanılıyorsa potansiyel bir karıştırıcı faktör olabilir. Bu, maruz kalma hususlarını etkiler ve Bölüm [R.7.11.4.2](#)'de daha ayrıntılı olarak açıklanmıştır.

Bir türün ilgi düzeyine ilişkin bir endişe ortaya çıkarsa, o zaman bir uzmana danışılmalıdır.

Ekleme yöntemi

Genel olarak, özel koşullar dikkate alınmadığı sürece, test edilen toprağa standart OECD ve ISO rehberlerinde belirtildiği gibi ekleme yapılmalıdır.

Standart dışı ekleme yöntemleri kullanılıyorsa, bunlar bilimsel olarak gerekçelendirilmelidir. Genel olarak, maddenin toprağa doğrudan ilavesi, su veya bir çözücü taşıyıcı kullanımı, çamur yoluyla uygulama veya doğrudan püskürtme dahil olmak üzere çeşitli ekleme yöntemleri mevcuttur. Ekleme yapılmış topraklar, zayıf çözünür maddeler için sorunlu olma eğilimindedir (ayrıca bkz. Sucul Toksikite Bölüm R.7.8.7.) Standart yaklaşım, test maddesinin bir çözücü içinde çözülmesi ve daha sonra kum eklenmesi, çözücünün uçurulması ve çeşitli test konsantrasyonları elde etmek için farklı kum/toprak oranları kullanarak kumun toprağa karıştırılmasıdır. Bu tekniğin dezavantajı, karıştırıldıktan saatler/günler sonra bile, maddenin homojen bir şekilde toprağa karışamayabilmesi, sadece orijinal kum üzerinde katı parçacıklar olarak mevcut olmasıdır. Bazı durumlarda, çözündürücülerin kullanımına ilişkin çalışmalar gerçekleştirilecektir. Bu koşullarda, test maddesinin biyoyararlanımındaki değişikliği ve ayrıca çözündürücünün potansiyel etkisini dikkate almak önemlidir. Çözücüler/çözündürücüler olmadan gerçekleştirilen çalışmalar, çözücüler/çözündürücülerle yapılan çalışmalara tercih edilir. Çözücü/çözündürücü konsantrasyonları tüm uygulamalarda ve kontrollerde aynı olmalıdır.

Topraktaki maddelerin biyoyararlanımının zamanla değiştiği bilinmektedir, bu nedenle ekleme sonrasında (çözücüler olan veya olmayan durumda) topraktaki maddenin yaşlanması dikkate alınmalıdır. Çalışmalarda yaşlanmanın etki-sonlanma noktaları elde etmeye uygunluğu, kullanım senaryosuna ve bu sonlanma noktası ile yapılan risk değerlendirme türüne bağlıdır. Burada uzman değerlendirmesi gereklidir. Metaller ve inorganik metal maddeler için, kısa yaşlanma/dengeleme süreleri ve toprakta yüksek seviyedeki eklenmiş metal konsantrasyonları, metallerin çözünmüş faza dağılımını belirginleştirecek ve çözünmüş metaller yoluyla maruz kalma ve/veya toksisite olasılığını artıracaktır (Oorst ve ark., 2006).

Temsili yaşlanma ve aşınma süreçlerinin hesaba katılması istenebilir, ancak şu anda bu standart test protokollerine dahil edilmemiştir.

Maruz kalma konsantrasyonunun makul bir tahmininin belirlenemediği durumlarda, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının bir parçası olmadıkça test sonucu dikkatle değerlendirilmelidir (bkz. Bölüm [R.7.11.5](#)).

Maruz kalma süresi

Genel olarak, özel koşullar dikkate alınmadıkça test süresi standart OECD ve ISO rehberlerinde belirtildiği gibi olmalıdır.

Standart dışı test metodolojileri için, testteki maruz kalma süresinin test organizmaları tarafından test maddesinin alınmasına yetecek kadar uzun olmasını sağlamak önemlidir. Kronik testlerde, süre, yaşam döngüsünün önemli bir bölümünü kapsamalıdır. Özellikle, yüzeye güçlü bir şekilde tutunan maddeler için, test sistemindeki ve test organizmalarındaki toprak konsantrasyonu arasında dengeye ulaşılması biraz zaman alabilir. Maruz kalma süresi, ilgili rehberlerdekinden farklıysa, bunun önemi için bilimsel bir gerekçe sağlanmalıdır veya çalışma *Kanıt Ağırlığı*nda kullanılabilir.

Bir türün ilgi düzeyine ilişkin bir endişe ortaya çıkarsa, o zaman bir uzmana danışılmalıdır.

Besleme

Genel olarak, test için kullanılan toprak tipi ve toprak koşulları, özel koşullar gerekli olmadıkça OECD ve ISO rehberlerinde belirtildiği gibi seçilmelidir.

Uzun süreli testlerde, özellikle sonlanma noktası olarak üremenin veya büyümenin söz konusu olduğu durumlarda, test organizmalarının beslenmesi gereklidir. Genel olarak testler, çalışma sırasında test organizmaları için gerekli olan gıda, test maddesi eklendikten sonra toprağa ilave edilecek şekilde tasarlanır. Standart test metodolojisinde, gıdaya test maddesi eklenmez. Standart dışı yöntemler için gıda türü test türüne bağlıdır. Test sistemine test süresince periyodik olarak veya sadece testin başlangıcında eklenen herhangi bir gıdanın çalışmanın sonucunu ve dolayısıyla elde edilen verilerin güvenilirliğini etkileyebileceği dikkate alınmalıdır.

Ad-libitum (istenildiği kadar) besleme veya bunun kullanılmaması, test organizmalarının sağlık durumunu ve dolayısıyla (kimyasal) stresle baş etme yeteneklerini etkileyebilir. Bu nedenle, farklı besleme rejimleri, etki parametresinin ifadesinde bir değişkenlik kaynağıdır.

Test tasarımı

Genel olarak, test tasarımı, özel koşullar gerekli olmadıkça standart OECD ve ISO rehberlerinde belirtildiği gibi olmalıdır.

Standart test metodolojileri için, test tasarımının detayları normalde iyi bir şekilde belgelendirilir. Standart dışı test metodolojisinin geçerliliğini sağlamak için, bunlar büyük ölçüde standart rehber testlerinde özetlenen özel durumları takip etmelidir (örn. yeterli konsantrasyonlar ve tekrarlar ile pozitif ve negatif kontroller dahil). Test sonuçlarının düzgün bir istatistiksel değerlendirmesi için, konsantrasyon başına test konsantrasyonlarının ve tekrarların sayısı kritik faktörlerdir. Test maddesinin uygulanması için bir çözücü kullanılırsa, ilave bir çözücü kontrolü gereklidir. Bir teste dahil edilecek uygun tekrar sayısı, test için gereken istatistiksel güce bağlıdır. İstatistiksel tasarım hakkında daha fazla rehberlik OECD (2006c) kaynağında sağlanmaktadır. Hangi test tasarım detaylarının kilit öneme sahip olduğu ve sonuçların geçerliliği belirsiz hale gelmeden önce hangilerinin eksik kalmasına izin verilebileceği konusunda önceden tavsiyede bulunmak her zaman mümkün değildir. Standart dışı testte test tasarımı hakkında ilgili bilgiler eksikse, bunlar yalnızca *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımında kullanılabilir.

R.7.11.4.2 Saha verileri veya model ekosistemler

Çoklu tür testi

Karasal çoklu tür test sistemlerine ilişkin OECD veya ISO rehberi yoktur.

Standartlaştırılmadığı için ve karmaşıklığı göz önüne alındığında, çoklu tür testi, durum bazında değerlendirilmelidir ve sonuçları tam olarak yorumlamak için uzman değerlendirmesi gereklidir.

Standartlaştırılmış gnotobiyotik sistemlerden (Cortet *ve ark.*, 2003) yerel toprakları ve toprak popülasyonlarını içeren testlere (Parmelee *ve ark.*, 1997, Knacker ve van Gestel 2004) kadar çeşitli test tasarımları ve değerlendirmeleri yayınlanmıştır. Etkilerin kabul edilebilirliği için sabit tetikleme değerleri, uygulamaların etkisi test tasarımına bağlı olarak önemli ölçüde farklı olabileceğinden önerilmez. Bununla birlikte, laboratuvar tabanlı çoklu tür çalışmalarına genel olarak tek tür testi ile aynı genel görüş (örn. güvenilirlik ve ilgi düzeyi ile ilgili olarak) verilmelidir. Karasal model ekosistemler için, tek tür testine kıyasla test sistemlerinde geniş bir doğal değişkenlik olabilir. Çeşitliliği ve tür etkileşimini ele almak için, çoklu test sistemleri, çeşitli yaşam stratejileri olan yeterli karmaşık tür toplulukları içermelidir. Bir model ekosistemden elde edilen sonuçların güvenilirliğini değerlendirirken, istatistiksel değerlendirmeye ve olası etkiyi belirlemek için test tasarımının kapasitesine özel önem verilmelidir. Kalıcı veya geçici olmak üzere, zaman içinde gözlemlenen etkiler araştırılmalıdır. Hem tek değişkenli hem de çok değişkenli analizlerin kombinasyonları tercih edilir; Morgan ve Knacker (1994), van den Brink ve Braak (1999), Scott-Fordsmand ve Damgaard (2006) kaynaklarından rehberlik sağlanabilir.

Saha testleri

Saha araştırmalarında, bireyler üzerindeki etkilerin aksine, popülasyon düzeyindeki etkiler çalışmaların istenen amacı veya sonlanma noktasıdır. Bir tür veya tür grubu üzerindeki popülasyon etkisi, iyileşme süresi de dahil olmak üzere, kontrol parselleriyle karşılaştırmalı olarak analiz edilmelidir. Uygulamaların etkisi farklı organizmalar için önemli ölçüde farklı olabileceğinden, etkilerin kabul edilebilirliği için sabit tetikleme değerleri önerilmez. Gelişim aşaması, türlerin hareketliliği ve üreme zamanı gibi biyolojik özellikler, etkilerin şiddetini etkileyebilir. Bu nedenle, kabul edilebilirlik duruma göre değerlendirilmelidir ve saha çalışması sonuçlarını tam olarak yorumlamak için uzman görüşü gereklidir. Önemli etkilerin tespit edildiği durumlarda, etkilerin süresi ve etkilenen taksonların aralığı dikkate alınmalıdır (Candolfi *ve ark.*, 2000).

R.7.11.4.3 Karasal toksisite için maruz kalma hususları

Kullanılmadan önce, maruz kalma verileri eksiksizlik, uygunluk ve güvenilirlik açısından doğrulanmalıdır. Maruz kalma verilerinin nasıl değerlendirileceğine dair rehber, Bölüm R.5.1'de geliştirilecektir. Kararlı ve/veya toksik bozunma ürünleri vermek üzere değerlendirilen maddenin biyotik veya abiyotik olarak bozunup bozunamayacağına dikkat edilmelidir. Değerlendirme, böyle bir bozunmanın meydana gelebileceği durumlarda ortaya çıkabilecek ürünlerin özelliklerine (toksik etkiler dahil) gereken önemi vermelidir.

R.7.11.4.4 Kalan belirsizlik

Toprak, abiyotik parametrelerin ve toprak yapısal koşullarının çok kısa mesafelerde değişebildiği çok heterojen bir çevresel katmandır; bunlar toprak testine ekstra bir değişkenlik boyutu katar.

Bu nedenle, testte seçilen ortamın iyi ölçüde karakterizasyonuna sahip olmak önemlidir. Buna ilave olarak, genellikle tekli sonuçlarda diğer ortamdan daha büyük farklılıklar vardır. Standart dışı testler için, toksisite sonuçlarındaki değişkenlik, standart testlerde gerekli olanla karşılaştırılabilir olmalıdır.

Mevcut standartlaştırılmış test yöntemleri, yalnızca birkaç toprak omurgasız taksonunu ele almaktadır. Bu nedenle, toprakta normalde bulunan çok çeşitli organizmalar üzerindeki maddelerin tüm özel etkileri, mevcut test yöntemleriyle kapsamayabilir. Bu organizmalar toprak topluluğunda önemli bir rol oynayabileceğinden, Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesinin tamamlanmasında standart dışı test tasarımlarından elde edilen sonuçların dikkate alınması uygun olabilir. Daha fazla standart test yöntemi geliştirilebilir ve gelecekte toprak güvenliği değerlendirme kavramının buna göre yenilenmesi gerekebilir.

R.7.11.5 "Karasal Organizmalar Üzerindeki Etkiler" ile ilgili sonuçlar

R.7.11.5.1 Sınıflandırma ve Etiketleme uygunluğuna ilişkin sonuç

SEA Yönetmeliği Ek 1'de belirtilmiş, toprak toksisite verilerine ilişkin gereklilik yoktur.

R.7.11.5.2 PBT/vPvB değerlendirmesi uygunluğuna ilişkin sonuç

Kalıcı, biyobirikimli, toksik (PBT) içerisinde Toksikite bileşeninin belirlenmesinde hem kısa süreli hem de uzun süreli toprak toksisite verilerinin potansiyel bir kullanımı vardır. Bununla birlikte, toprak toksisitesi için KKDİK Ek 13 Bölüm 1.1.3'te şu anda herhangi bir kriter bulunmamaktadır ve bu nedenle özel veri gereklilikleri yoktur.

Toprak omurgasızları veya bitkiler üzerinde standart testler kullanılarak toprak organizmalarına kısa veya uzun süreli toksisite gösteren verilerin mevcut olduğu durumlarda, bunlar toksisite kriterlerine yönelik bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımındaki diğer verilerle birlikte dikkate alınmalıdır (KKDİK Ek 13 Bölüm 3.2.3).

R.7.11.5.3 Kimyasal güvenlik değerlendirmesinde kullanım uygunluğuna ilişkin sonuç

Toprak ortamı riskinin nicel değerlendirmesinin bir parçası olarak, $PNEC_{\text{toprak}}$ değeri oluşturmak için kimyasal güvenlik değerlendirmesinde toprak toksisite verileri kullanılır. İdeal olarak, bu, bitkiler, omurgasızlar ve mikro organizmaları kapsayan toprak organizmaları üzerinde yapılan uzun süreli toksisite çalışmalarından elde edilen kaliteli verilere dayanılarak hesaplanacaktır. Standartlaştırılmış, uluslararası kabul görmüş rehberlere göre yürütülen çalışmalardan bu tür verilerin mevcut olduğu durumlarda, bunlar doğrudan $PNEC_{\text{toprak}}$ değerini oluşturmak için kullanılabilir.

Bununla birlikte, bu tür verilerin nadiren elde edilebildiği ve toprak için riski karakterize etmek üzere gerekli olmayabileceği unutulmamalıdır. Neyin bilgi yeterliliği olarak kabul edilebileceğini tanımlarken, suda çözünürlük, oktanol/su dağılımı ($\log K_{ow}$), buhar basıncı ve biyotik ve abiyotik bozunma ve maruz kalma potansiyeli hakkında mevcut tüm bilgilere sahip olmak da gereklidir.

Toprağın maruz kalması ihmal edilebilir olarak değerlendirildiğinde, yani arıtma çamurunun araziye yayılma olasılığının düşük olduğu veya maddenin havada birikmesinin ve sulama veya kontamine atıkla temas gibi diğer yolların eşit derecede olası olmadığı durumlarda, PEC veya PNEC hesaplanamaz veya hesaplanması gerekmez ve toprak toksisite verileri gerekli değildir.

Genel olarak, mevcut veriler toprak organizmaları için kesin bir PNEC elde etmek için gerekenden daha az olacaktır. Aşağıdaki bölümler, yine de, farklı kalite ve eksiksizlikteki veri setlerinin, kimyasal güvenlik değerlendirmesi amaçları için bir PNEC hesaplamasında "amaca uygun" olarak kabul edilebileceği durumları açıklamaktadır.

Ayrıca, *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımı ile ilgili bir bölüm bu bölümün sonunda yer almaktadır ve test stratejilerine ilişkin rehberlik bu raporda [Şekil R.7.11–2](#) ve [Şekil R.7.11–3](#) ve [Tablo R.7.11–2](#), Bölüm [R.7.11.6](#) (bütünleşik test stratejisi) içerisinde verilmektedir.

Toprak toksisitesi verilerinin mevcut olmaması durumunda

Toprak organizması toksisite verilerinin mevcut olmadığı durumlar olacaktır. Toprak organizması toksisite verilerinin üretilip üretilmemesi gerektiği konusunda bir yargıya varılırken ve eğer öyleyse, bunların ne olması gerektiğine ilişkin olarak, sucul organizmalarla ilgili mevcut olanlar da dahil olmak üzere tüm mevcut veriler ilk olarak aşamalı bir yaklaşımın parçası olarak incelenmelidir. Mevcut verilerin suda yaşayan organizmalar için bir PNEC değeri türetmek için yeterli olduğu durumlarda, bu PNEC, Denge Dağılım Yöntemi yaklaşımı kullanılarak toprak riskleri için bir tarama değerlendirmesinde kullanılabilir. Denge Dağılım Yöntemi ile sucul PNEC değerinden türetilen $PNEC_{\text{toprak}}$ değerinin karşılaştırılması PEC:PNEC oranının < 1 olduğunu gösteriyorsa, mevcut bilgiler toprak değerlendirmesini sonuçlandırmak için yeterli olabilir. Yüzeye tutunmanın yüksek olmasının muhtemel olduğu durumlarda, yani $\log K_{ow}$ veya $\log K_{oc} > 5$ olduğunda, PEC:PNEC oranı 10 ile çarpılır. Bununla birlikte, Denge Dağılım Yönteminin kullanımı yalnızca belirsiz bir risk değerlendirmesi sağlar ve Ek 9 ve 10'un standart veri seti gerekliliklerini değiştirmek için kullanılabilirken, bu Ek kapsamında tek başına aşağıdaki daha fazla bilgi ihtiyacını ortadan kaldırmak için kullanılamaz. Bu, Bölüm [R.7.11.6](#) içerisinde daha ayrıntılı olarak açıklanacak ve [Tablo R.7.11–2](#), Bölüm [R.7.11.6](#) içerisinde tablo formatında gösterilecektir.

PEC:PNEC oranının > 1 olduğu durumlarda, yalnızca sucul toksisite verilerine dayanan bilgiler (yani $PEC/PNEC_{\text{tarama}}$) yetersizdir ve toprak toksisite verilerinin oluşturulması gerekecektir.

Madde aynı zamanda biyolojik veya abiyotik olarak kolay bozunur olduğunda ve $\log K_{ow} < 5$ olduğunda, sucul toksisite verilerini kullanarak hiçbir risk göstermeyen bu tarama değerlendirmesi, Ek 9 kapsamındaki daha fazla bilgi ihtiyacını ortadan kaldırmak için yeterlidir. Diğer durumlarda, tek başına sucul toksisite verilerinden elde edilen $PNEC_{\text{tarama}}$ değerinin türetilmesi, Ek 9 veya 10 testlerini azaltmak için yetersiz olacaktır.

Yukarıda belirtildiği gibi, normalde hiçbir etki göstermeyen akut sucul toksisite testlerinden toprak tarama değerlendirmesi amacıyla kapsamlı bir PNEC değeri elde etmek mümkün olmayacaktır. Bu, özellikle az çözünür maddeler için geçerlidir. Suda çözünürlüğün < 1 mg/l olduğu durumlarda, akut toksisitenin olmaması, testteki düşük maruz kalmalar nedeniyle toprak organizması üzerindeki potansiyel etkiler için güvenilir bir gösterge olarak göz ardı edilebilir. Sucul organizmalarda maddenin çözünürlük sınırına kadar kronik veya uzun süreli etkilerin olmaması veya 10 mg/l'nin üzerindeki çözünürlük aralığında akut etkilerin olmaması, Ek 9 ve 10 içerisindeki veri gerekliliklerini değiştirmek/bunlardan feragat etmek için bir *Kanıt Ağırlığı* savunmasının bir parçası olarak kullanılabilir.

Yukarıda açıklanan özel durum haricinde, toprak için PNEC türetmek veya doğrulamak üzere Ek 9 ve 10'da tanımlanan şekilde toprak organizması toksisite verileri gereklidir.

Normalde, bir $PNEC_{\text{toprak}}$ değeri elde etmek için standart, uluslararası kabul görmüş rehberlerden üç $L(E)C_{50}$ değeri gereklidir. Test edilen türler üç taksonomik gruba kapsmalı ve Ek 9'da tanımlanan şekilde bitkiler, omurgasızlar ve mikro organizmaları içermelidir. Normalde, yeni test gerektiğinde, bu testler OECD Rehber Testleri 207 (Toprak Solucanı Akut Toksisitesi), 208 (Yüksek Bitki Toksisitesi) ve 216 (Azot Dönüşümü) olacaktır. $PNEC$, bu testten en düşük $L(E)C_{50}$ değerine bir değerlendirme faktörü uygulanarak türetilir.

Bununla birlikte, yeni testler yapılmadan önce, Eklerin gerekliliklerinin karşılanıp karşılanmadığını belirlemek için mevcut tüm bilgiler toplanmalıdır. Genel olarak, gerekli veriler sadece farklı taksonları değil, aynı zamanda farklı maruz kalma yollarını da (örn. besleme, yüzey teması) kapsamalıdır ve bu, verilerin yeterliliği ve ilgi düzeyine karar verirken dikkate alınmalıdır. Bu nedenle, toprak solucanı testi, her bir yüzey teması, toprak taneciği alımı ve gözenek suyu yoluyla potansiyel alım yapılmasına izin verirken, bitki maruz kalması büyük ölçüde gözenek suyu yoluyla olacaktır.

Mevcut tüm verilerin değerlendirilmesi sırasında, *Kanıt Ağırlığının* (aşağıya bakınız) belirli testlerin atlanmasına izin verip vermeyeceğine karar verirken uzman değerlendirmesi kullanılmalıdır.

Genel olarak, standart akut toksisite testlerinde > 10 mg/l düzeyinde toksisite $L(E)C_{50}$ değeri bulunmadığında veya suda çözünürlük sınırında kronik toksisitede hiçbir etki olmadığında veya Denge Dağılım Yöntemine dayalı tarama değerlendirmesinin hiçbir endişe göstermediği durumlarda, uygun bir tür üzerinde tek bir kısa süreli toprak testi Ek 9'un gerekliliklerini karşılamak için yeterli olacaktır. Toprak $PNEC$ değeri, uygun değerlendirme faktörlerinin sucul verilere ve kısa süreli toprak verilerine ve alınan en düşük değere uygulanmasıyla elde edilecektir. Maddenin yüksek düzeyde yüzeye tutunduğu olduğu yerlerde, örn. $\log K_{ow}/K_{oc} > 5$ ve/veya madde toprakta çok kalıcı olduğunda, bu tek test uzun süreli bir test olmalıdır. Yarı ömrü > 180 gün olan maddeler, toprakta çok kalıcı olarak kabul edilir. Bu kalıcılık, madde kolay bozunur olmadığı sürece, belirli toprak verilerinin yokluğunda varsayılacaktır. Test seçimi (omurgasız / bitki / mikroorganizma) mevcut tüm bilgilere dayanacaktır, ancak seçici toksisitenin açık bir belirtisinin olmaması durumunda, bir omurgasız (toprak solucanı veya sıçrar kuyruklular) testi tercih edilir.

Akut veya kısa süreli toprak organizması toksisite verileri

Toprak toksisitesi ile ilgili veriler halihazırda mevcutsa, bunlar, yeterliliği (güvenilirlik ve ilgi düzeyi) açısından incelenmelidir. Normalde, mikroorganizma veya bitki testi tek başına yeterli görülmez, ancak *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımının bir parçası olarak kabul edilir. Tam olmayan bir toprak toksisite veri setinin mevcut olduğu durumlarda, $PNEC_{\text{toprak}}$ değerinin türetilmesinde hem mevcut toprak verileri hem de Denge Dağılım Yöntemi tarafından değiştirilmiş sucul toksisite verileri kullanılmalıdır. Bu tür durumlarda, sonrasında $PEC:PNEC < 1$ olduğunda, bu yeterli bir veri seti oluşturacak ve başka testler gerekmeyecektir.

Ek 8 testinde arıtma çamuru mikrobiyal aktivitesinin inhibisyonunun gözlemlendiği durumlarda, geçerli bir $PNEC$ değerinin türetilmesi için toprak mikrobiyal aktivitesi üzerine bir test de gerekli olacaktır.

Diğer tüm durumlarda, Ek 9 gerekliliklerini karşılamak için üç kısa süreli toprak toksisite testine ihtiyaç vardır. Maddenin yukarıda açıklandığı gibi yüksek oranda yüzeye tutunan veya çok kalıcı bir madde olduğu durumlarda, uzun süreli maruz kalmaların etkisi tahmin edilmelidir.

Bu nedenle, diğer uzun süreli toksisite verileri dikkate alınabilmesine rağmen, en azından omurgasız verileri uzun süreli bir toksisite testinden türetilmelidir. Başka testlere gerek olmadığını diğer testlerden *Kanıt Ağırlığına* göre göstermek mümkün olabilir. Böyle bir savunmanın yapıldığı yerde, kimyasal güvenlik değerlendirilmesinde açıkça belgelenmelidir.

L(E)C50 değerleri, değerlendirme faktörlerini kullanarak bir PNEC türetmek için kullanılır.

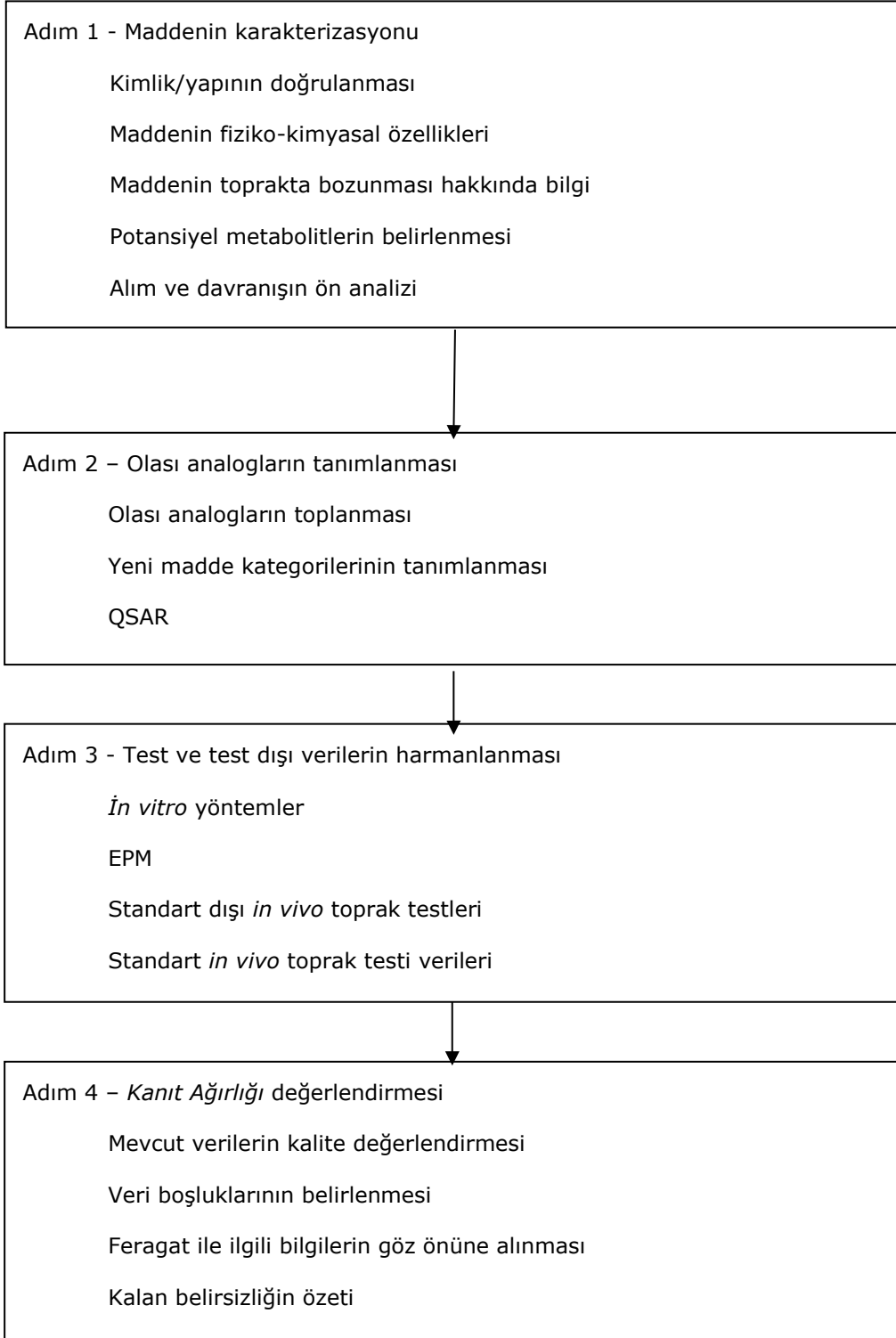
Kronik veya uzun süreli toprak organizması toksisite verileri

Bitkiler ve/veya toprak omurgasızları üzerinde kabul görmüş rehberlere göre yürütülen kronik veya uzun süreli toksisite testleri, $PNEC_{\text{toprak}}$ değeri elde etmek için kullanılabilir. NOEC veya uygun EC_x , uygun bir değerlendirme faktörü ile kullanılabilir. Kronik veya uzun süreli testlerden elde edilen bu tür verilerin mevcut olduğu durumlarda, bunlar PNEC türetmek için kısa süreli testlere tercih edilerek kullanılmalıdır. Genel olarak, üç uzun süreli NOEC/ EC_x gereklidir, ancak PNEC, değerlendirme faktörünün uygun şekilde ayarlanmasıyla iki veya bir değer üzerinden türetilir. Testler, bir omurgasız (tercihen toprak solucanı üreme testi), daha yüksek bir bitki çalışması ve mikroorganizmalar üzerine bir çalışma (tercihen azot döngüsü üzerinde) içermelidir. Kabul edilebilir standart rehberlere göre yürütülürse diğer uzun süreli testler de kullanılabilir (bkz. Bölüm [R.7.11.4](#)).

Yeterli uzun süreli verilerin mevcut olduğu durumlarda, genellikle kısa süreli veya akut etkiler konusunda daha fazla test yapmak gerekli değildir.

Uzun süreli toksisite verilerinin mevcut olmadığı durumlarda, kimyasal güvenlik değerlendirmesinin veri ihtiyaçlarının karşılanıp karşılanmadığını belirlemek için mevcut tüm diğer veriler incelenmelidir. Bu verilerin yeterliliği ve ilgi düzeyi yukarıda açıklanmıştır. Sadece sucul etkiler ve/veya kısa süreli toksisite hakkındaki verilerin kimyasal güvenlik değerlendirmesini tamamlamak için yetersiz olduğu, yani risklerin bu tarama verilerine dayalı olarak tanımlandığı durumlarda, yeni uzun süreli testlerin yapılması gerekir.

Şekil R.7.11–1 Kanıt ağırlığı yaklaşımı



Yukarıdaki akış diyagramı, bir *Kanıt Ağırlığı* kararında mevcut tüm verilerin nasıl kullanılacağına dair sistematik bir yaklaşımın ana hatlarını çizmektedir. Genel bir sonuca varmaya yardımcı olabilecek farklı bilgi türlerinin değerlendirilmesi için aşamalı bir prosedür sağlar.

Şema, sırasının verilerin kalitesi ile miktarına bağlı olduğu ve değiştirilebilen esnek bir adım dizisi önerir. Herhangi bir belirli madde için yeterli kalitede *in vivo* toprak verileri mevcut olduğunda (3. adım) 2. adımın gerçekleştirilmesi bir $PNEC_{\text{toprak}}$ değeri elde etmek için gerekli olmayabilir. Ancak, *in-vivo* veriler mevcut olduğunda bile, diğer veri türleriyle bir *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesinin, türetilen $PNEC_{\text{toprak}}$ değeri ile güveni arttırmak ve kalan belirsizliği azaltmak için yararlı olabileceği kabul edilmektedir.

Adım 1 - Maddenin karakterizasyonu

Sınıflandırma ve etiketleme (Bölüm [R.7.11.5.1](#)) veya PBT değerlendirmesi (Bölüm [R.7.11.5.2](#)) için zararlılık verileri sağlamak üzere toprak testleri için mevcut gereklilikler olmadığından, toprak organizmaları üzerindeki herhangi bir etki verisine duyulan ihtiyaç, kimyasal güvenlik değerlendirmesini geliştirme ihtiyacı ve özellikle de maddenin çevresel maruz kalma, davranış ve hareketi tarafından yönlendirilmelidir. Bu nedenle, toprak alanındaki herhangi bir değerlendirmenin başlangıç noktası, maddenin davranış ve hareketini anlamamızı sağlayan kilit parametreleri toplamak olmalıdır:

Fiziko-kimyasal özellikler. Suda çözünürlük, Kow, Koc, Henry sabiti vb., toprakta içerisinde/üzerinde biriktikten sonra toprakta, suda ve havada dağılım hakkında bilgi verecektir.

Bozunma verileri (toprakta), maddenin çökme sonrasında topraktan kaybolup kaybolmayacağı veya alternatif olarak toprakta kalıp kalmayacağı veya hatta uzun süreli etkilere neden olma potansiyeline işaret edecek şekilde zamanla birikip birikmeyeceği hakkında bilgi sağlayacaktır. Oluşan herhangi bir (büyük) metabolitin, toprak içinde/üzerinde birikimden sonra bir maddenin kapsamlı bir güvenlik değerlendirmesini sağladığı düşünülmelidir.

Adım 2 - Olası analogların ve alternatif verilerin tanımlanması

Maddeye özel verileri arama/oluşturma ihtiyacını ortadan kaldırabilecek/değiştirebilecek kimyasal analogları (çapraz okuma) tanımlama çabası, genellikle değerlendirmede ilerlemenin daha kaynak açısından etkin bir yoldur. Bir analogla ilişkin davranış verileri, maddenin etki testinin daha odaklanmış olmasına izin verebilir. Bir analog madde üzerindeki etki verileri, potansiyel olarak belirli maddeye özel test gerekliliklerinden feragat etmek için kullanılabilir. Bununla birlikte, analoglardan vekil verilerle bir maddenin değerlendirilmesinin sınırlamalarını anlamak önemlidir, bu nedenle, kalan belirsizliğin değerlendirilmesi (ayrıca bkz. adım 4) burada birincil öneme sahiptir.

Test dışı verilerin (QSAR) mevcut olduğu durumlarda, bunlar aynı zamanda ilk tarama değerlendirmesi için ve belirli maddeye özel toprak testi gerekliliklerinden feragat etmek için de kullanılabilir (bkz. Bölüm [R.7.11.5.3](#)).

Adım 3 - Test ve test dışı verilerin harmanlanması

Ek 9 ve 10'da belirtilen veri gerekliliklerini karşılayan *in vivo* verilere en yüksek öncelik verilir. Bu tür verilerin mevcut olduğu yerlerde, kaliteleri ve ilgi düzeyi dikkatlice kontrol edilir. Sonlanma noktasına ilişkin nicel bir sonuç çıkarmak için kaliteli veriler kullanılabilir.

Adım 4. Kanıt ağırlığı değerlendirmesi

Herhangi bir kapsamlı değerlendirmenin ilkesi, ister test dışı (QSAR), Denge Dağılım Yöntemi veya toprağa özel test (*in vitro* veya *in vivo*) verileri olsun, bir madde hakkında mevcut ve potansiyel olarak ilgili tüm bilgileri toplamaktır. Herhangi bir bilgi kaynağı potansiyel olarak bir değerlendirmeye odaklanmak veya sonlanma noktasının türetilmesinden sonra kalan belirsizlikleri sınırlamak için kullanılabilir. Bir madde için 3 taksonomik grubun hepsine ilişkin standart etki verileri mevcut olduğunda bile, standart dışı veya test dışı başka veriler değerlendirmenin geliştirilmesinde faydalı olabilir. Sıralı bir veri toplamasından ziyade, tüm mevcut bilgileri bir araya getiren tek bir adım, toprak organizmaları için *Kanıt Ağırlığı* değerlendirmesine giden yoldur.

Standart çalışmalar bulunması (veri boşluğu olmaması)

Kanıt Ağırlığı yaklaşımı normalde mevcut verilerin kalitesinin değerlendirilmesi ile başlar. Uluslararası uyumlaştırılmış rehberlere (OECD/ISO) göre gerçekleştirilen ve kalite kriterleri (GLP) kapsamında oluşturulan, standart türler kullanılan standart etki verileri, en yüksek kaliteli veri kategorisini açıkça temsil eder ve ardından standart dışı *in vivo* test, *invitro* test ve test dışı veriler olmak üzere ikincil kaynaklar gelir. Bununla birlikte, bir madde için standart testler mevcut olsa bile, değerlendirmede güven kazanmak için başka ikincil bilgi kaynakları (standart dışı test veya test dışı) kullanılabilir. İkincil kaynaklardan gelen destekleyici kanıtlar, herhangi bir değerlendirmeyle ilişkili kalan belirsizliği azaltır. Birincil ve ikincil kaynaklar arasındaki çelişkili bilgiler, kapsamlı bir belirsizlik analizi yapma ihtiyacını gösterir.

Aynı tür ve aynı sonlanma noktası için birden fazla standart çalışmanın mevcut olması ve çalışmalar arasında belirgin kalite farklılıkları olmaması durumunda, verilerin maddenin biyoyararlanımının benzer olmasının beklendiği topraklarda elde edilmesi halinde, sonlanma noktasının değerlendirilmesinde kullanılmak üzere bir geometrik ortalama değeri türetilir. Verilerin maddenin biyoyararlanımının önemli ölçüde farklı olduğu topraklarda elde edildiği durumda bile, veriler belirli bir standart duruma göre normalleştirilebildiği zaman geometrik bir ortalama kullanılabilir. Verilerin normalizasyonu mümkün değilse, en yüksek biyoyararlanıma sahip toprakta elde edilen değer PNEC üretmek için alınacaktır.

Aynı türler için ancak farklı sonlanma noktaları için birden fazla veri mevcutsa, prensipte en hassas sonlanma noktası PNEC üretmek için alınacaktır. Ancak bu adımdan önce, ekosistemin durumunu tanımlamak için tüm sonlanma noktalarının uygunluğu dikkate alınmalıdır.

Herhangi bir organizma grubunda (bitki, omurgasız, mikroorganizma) birden fazla tür test edilmişse, bu tür verilerin mevcudiyetinin sağlayabileceği şekilde belirsizliğin azalmasına izin verilmelidir. Kimyasal Güvenlik Değerlendirmelerinde Tür Hassasiyet Dağılımı eğrileri (SSD) ve Zararlılık Konsantrasyonu (HCx) yaklaşımları başarıyla kullanılmıştır.

Eksik standart çalışmalar (veri boşlukları)

Tam bir standart (GLP) etki testi seti yalnızca nadir olarak mevcuttur. Bu nedenle, > 100 ton/yıl imalat hacimlerine ulaşan maddeler için potansiyel veri boşlukları olabilir (Ek 9 ve 10). Bu durumda, sonlanma noktası değerlendirmesini tamamlamak için bu tür verilerin oluşturulmasına ihtiyaç olup olmadığını araştırmak üzere ikincil kaynak veriler kullanılmalıdır, örneğin:

Standart dışı türlere ilişkin test verileri mevcutsa ve bu çalışmalar yüksek bir bilimsel kaliteye göre gerçekleştirilmişse, standart bir test için gereklilikten feragat edilebilir; örneğin sıçrar kuyruklular dışındaki bir toprak böceği için güvenilir bir NOEC değeri, özellikle bu test toprak omurgasızlarının değerlendirilen maddeye özellikle hassas olmadığını gösterdiğinde, toprak omurgasızları grubu için vekil veri olarak kullanılabilir.

OECD veya ISO rehberlerine tam olarak uymayan, standart bir tür üzerinde bir çalışmanın bulunması, veriler bilimsel olarak kapsamlıysa, bu standart tür üzerinde yeni bir çalışma yürütme gerekliliğinden feragat etmek için kullanılabilir ve bu organizma grubunun güvenlik değerlendirmesinde kritik olmadığını belirtir.

İkincil kaynak etki verilerinin başka bir kullanımı, özellikle daha yüksek kademelerde test gerekliliklerini yönlendirmektir. Literatürde belirli bir hassas organizma grubunun tanımlanması, bu organizma grubunu içerecek şekilde daha yüksek kademeli/çoklu tür çalışmalarının kapsamını genişletme ihtiyacına yol açabilir. Örneğin ikincil kaynaklardan alınan bilgiler, molekülün belirli bir organizma grubuna (örn. bitkiler) karşı özel aktiviteye sahip olduğunu gösterebilir ve bu, değerlendiricinin yalnızca bitkiler için standart testlere dayalı olarak sonlanma noktasına karar vermesine ve Ek 9 ve 10'daki omurgasız ve mikro organizma testi gerekliliklerinden feragat etmesine izin verebilir.

Aynı tür için birkaç ikincil kaynak verisi mevcutsa, veriler birleştirilerek sonucun istatistiksel gücünü veya değerlendiricinin ikincil verilere dayalı bir (tarama-) sonlanma noktası türetmekte sahip olabileceği güveni artırabilir.

Herhangi bir değerlendirmenin sonunda - sonlanma noktasının (PNEC) türetilmesi ve değerlendirme/sonlanma noktası ile ilişkili kalan belirsizliğin değerlendirilmesi gerekir. TRD, PNEC değerlerinin türetilmesinde değerlendirme faktörlerini kullanarak belirsizlikleri açıkça ele alır, ancak bunu yalnızca mevcut bilgi miktarına dayalı olarak yapar. Bir maddenin özel profiline veya çalışmalardan elde edilen bireysel toksikolojik değerlerin (NOEC, ECx) kalitesine dayalı olarak değerlendirmenin nasıl değiştirileceği konusunda çok az rehberlik sağlar. Bir çalışmadan herhangi bir sonlanma noktası ile ilişkili güven seviyesi büyük ölçüde göz ardı edilir. Bu nedenle, sonlanma noktasının nicel değerlendirmesine paralel olarak, değerlendiricinin bu sonlanma noktasında ne kadar güveni olduğuna dair tahminler, ideal olarak bir belirsizlik analizi aracılığıyla ifade edilmelidir.

R.7.11.6 Karasal Organizmalar Üzerindeki Etkiler için Bütünleşik Test Stratejisi (BTS)

Temel olarak bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımına dayalı olarak, bütünleşik test stratejisi (BTS), bir maddenin sınıflandırmasını (veya sınıflandırmadan çıkarılmasını), PBT / vPvB değerlendirmesini ve risk değerlendirmesini desteklemek için yeterli veri üretmek amacıyla geliştirilmelidir. Toprak ortamı için şu anda sınıflandırma ve PBT değerlendirmesi için hiçbir kriter yoktur, bu nedenle toprak için BTS özellikle kimyasal güvenlik değerlendirmesi için veri üretmeye odaklanmıştır.

R.7.11.6.1 Amaç / Genel ilkeler

Bu test stratejisinin temel amacı, sonlanma noktasına göre zararlılığın tanımlanmasına yönelik aşamalı bir yaklaşım konusunda rehberlik sağlamaktır. Stratejinin temel ilkelerinden biri, bir çalışmanın sonuçlarının bir başkası başlatılmadan önce değerlendirilmesidir.

Strateji, hayvan kullanımının ve maliyetlerin en aza indirilmesi için veri gerekliliklerinin en verimli şekilde karşılanmasını sağlamaya çalışmalıdır.

R.7.11.6.2 Ön hususlar

Yukarıda Bölüm [R.7.11.2](#) ile [R.7.11.4](#) içerisinde sağlanan rehberlik, Ek 7 ile 10'da tanımlanan KKDİK gerekliliklerini karşılamak için gerekli olan verilerin tanımlanmasını sağlayacaktır. BTS'nin temel hedeflerine halihazırda ulaşıp ulaşılmadığını tespit etmek için mevcut çevresel veriler, maruz kalma özellikleri ve mevcut risk yönetimi prosedürlerinin dikkatlice değerlendirilmesi tavsiye edilir. Veri gerekliliklerini azaltabilecek diğer faktörler hakkında rehberlik sağlanmıştır (örn. diğer toksik özelliklere sahip olma, testleri teknik olarak mümkün kılmayan özellikler - daha fazla bilgi için bkz. Bölüm R.5.2).

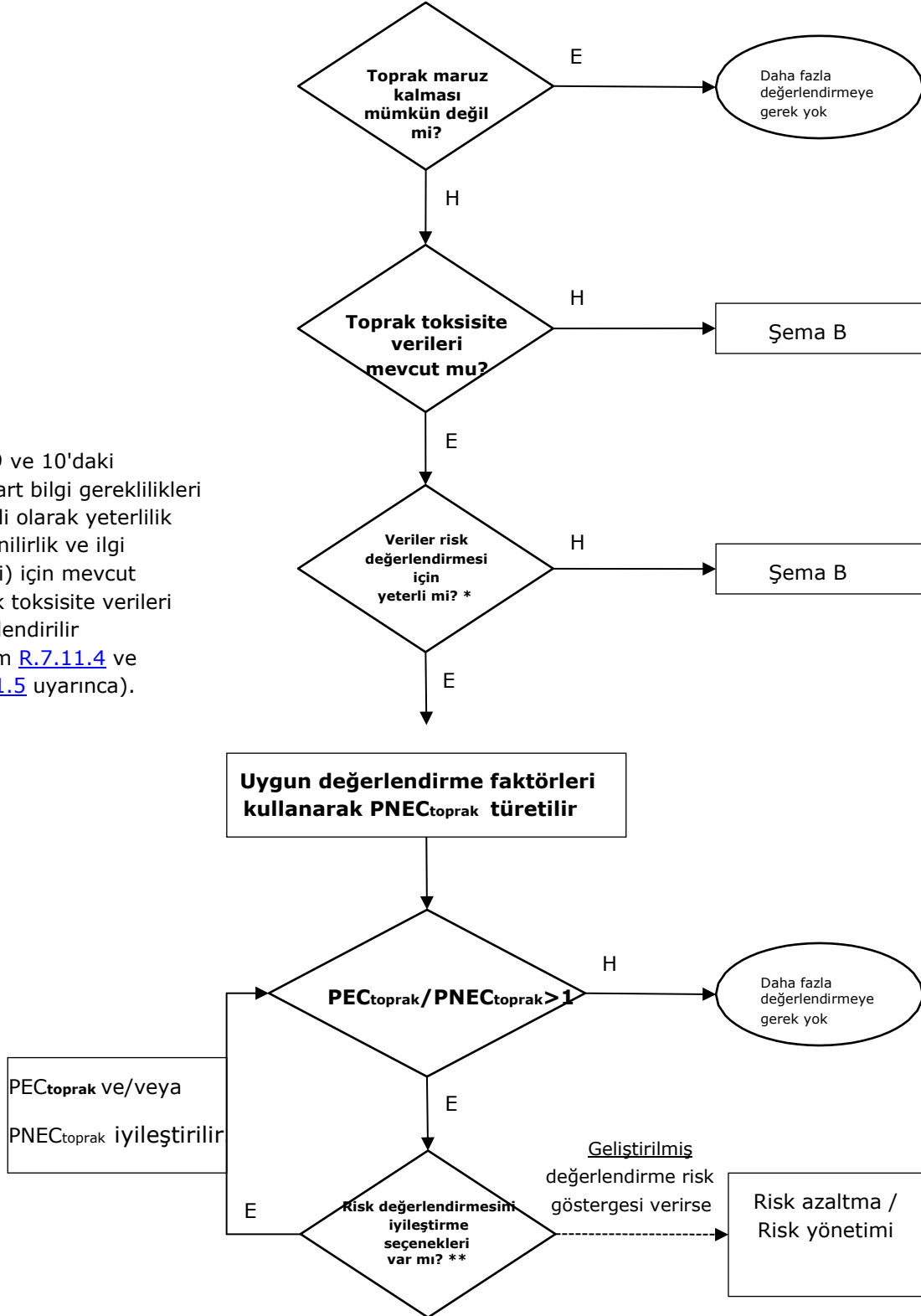
R.7.11.6.3 Test stratejisi

Genel risk değerlendirme yaklaşımı [Şekil R.7.11–2](#) 'de ve BTS [Şekil R.7.11–3](#).'te verilmiştir.

Mevcut çevresel verileri, maruz kalma özelliklerini ve Ek 9'daki standart bilgi gerekliliklerinden uyarılma için bazı genel kurallar ile birlikte, Ek 9 ve 10'un 2. sütununda açıklanan şekilde standart bilgi gerekliliklerinden uyarılma için özel kuralları hesaba katmak üzere sonlanma noktası için bir test stratejisi geliştirilmiştir.

Şekil R.7.11—2 Şema A: Genel risk değerlendirme şeması

* Ek 9 ve 10'daki standart bilgi gereklilikleri ile ilgili olarak yeterlilik (güvenilirlik ve ilgi düzeyi) için mevcut toprak toksisite verileri değerlendirilir (Bölüm [R.7.11.4](#) ve [R.7.11.5](#) uyarınca).



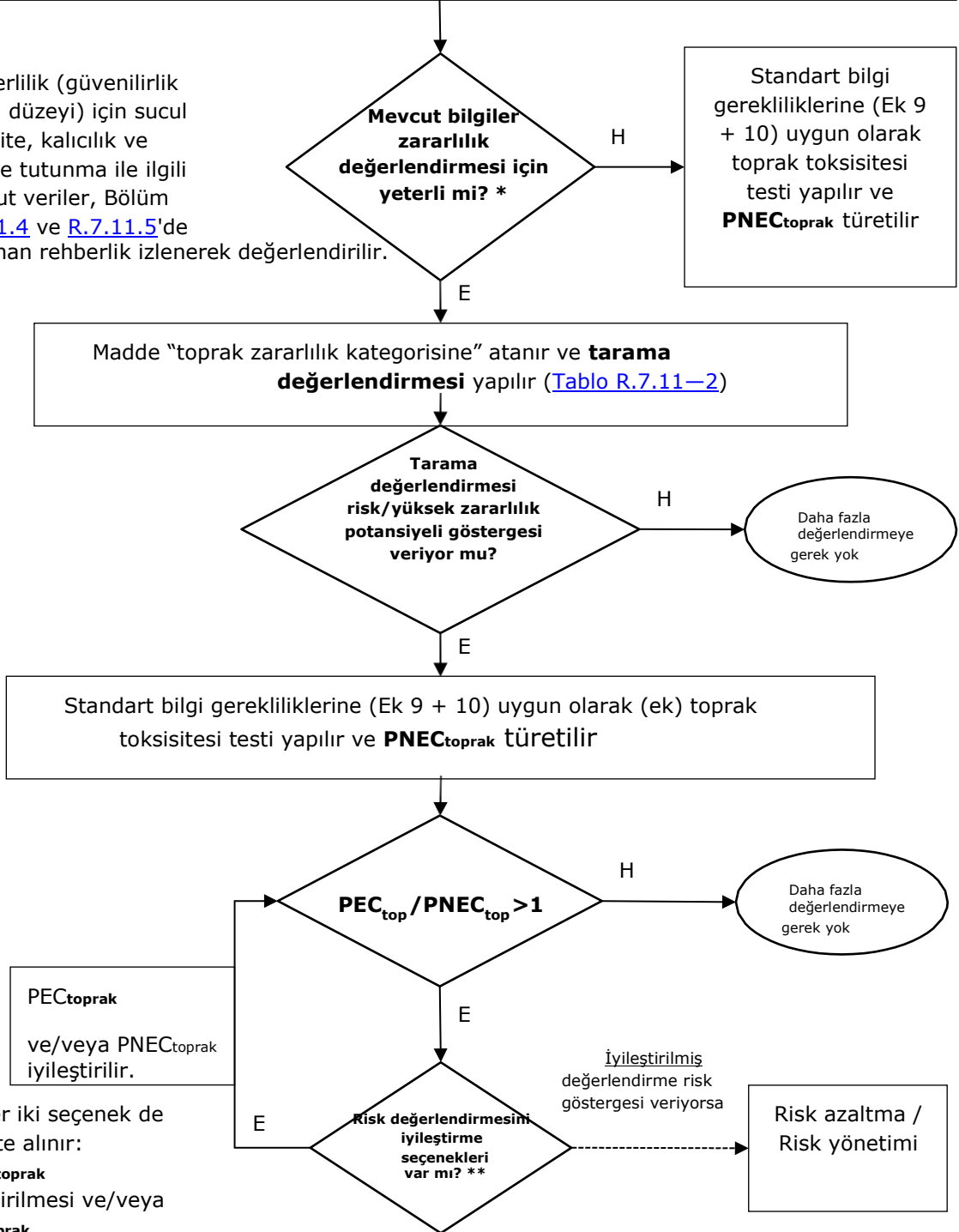
** İki seçenek de dikkate alınır: PNEC_{toprak} iyileştirilmesi ve/veya PEC_{toprak} iyileştirilmesi.

Şekil R.7.11–3 Şema B: Bütünleşik test stratejisi (Ek 9 ve Ek 10 maddeleri)

İlgili maddenin bir "toprak zararlılık kategorisi" altında sınıflandırılmasına uygun mevcut bilgiler toplanır (Tablo R.7.11–2):'ye göre):

1. Sucul toksisite verileri (PNEC_{sucul})
2. Kalıcılık (toprakta)
3. Yüzeye tutunma potansiyeli (toprakta)

* Yeterlilik (güvenilirlik ve ilgi düzeyi) için sucul toksisite, kalıcılık ve yüzeye tutunma ile ilgili mevcut veriler, Bölüm R.7.11.4 ve R.7.11.5'de sağlanan rehberlik izlenerek değerlendirilir.



** Her iki seçenek de dikkate alınır: PNEC_{toprak} iyileştirilmesi ve/veya PEC_{toprak} iyileştirilmesi.

Tablo R.7.11—2 Toprak zararlılık kategorileri ve tarama değerlendirilmesi (Ek 9 ve 10'a göre standart bilgi gerekliliklerinden feragat için)

	Zararlılık kategorisi 1	Zararlılık kategorisi 2	Zararlılık kategorisi 3	Zararlılık kategorisi 4
Maddenin toprakta yüksek yüzeye tutunma ¹⁵ VEYA yüksek kalıcılığı ¹⁶ için bir gösterge var mı?	H	H	E	E
Maddenin sucul organizmalar için çok toksik ¹⁷ olduğuna dair bir gösterge var mı?	H	E	H	E
Tarama değerlendirmesi için yaklaşım	PEC/ PNEC _{tarama} (Denge Dağılım Yöntemine ¹⁸ dayanarak)	PEC/ PNEC _{tarama} (Denge Dağılım Yöntemine dayanarak) VE doğrulayıcı kısa süreli bir toprak toksisite testi yapılır (örn. sucul toksisite verilerinden belirtildiği gibi en hassas organizma grubu ile bir sınır testi)	PEC × 10 / PNEC _{tarama} (Denge Dağılım Yöntemine dayanarak) VE doğrulayıcı uzun süreli bir toprak toksisite testi yapılır (örn. sucul toksisite verilerinden belirtildiği gibi en hassas organizma grubu ile bir sınır testi)	Denge Dağılım Yöntemine dayalı tarama değerlendirmesi tavsiye edilmez, içsel özellikler toprak organizmaları için yüksek zararlılık potansiyeline işaret eder

¹⁵ log K_{ow} > 5 veya iyonlaşabilir bir madde

¹⁶ DT50 > 180 gün (kolay biyobozunur olarak sınıflandırılmadıkça varsayılan düzenleme)

¹⁷ EC/LC50 < 1 mg/L, alg, dafniya veya balık için

¹⁸ EPM: Denge Dağılım Yöntemi

	Zararlılık kategorisi 1	Zararlılık kategorisi 2	Zararlılık kategorisi 3	Zararlılık kategorisi 4
<p>Tarama değerlendirmesinin sonuçları ve standart bilgi gerekliliklerinden feragat</p> <p>toprak organizmalarıyla toksisite testi ve $PNEC_{\text{toprak}}$ değerinin türetilmesi</p>	<p>$PEC/PNEC_{\text{tarama}} < 1$ ise: Toprak organizmaları için toksisite testi yapılmasına gerek yoktur</p> <p>$PEC/PNEC_{\text{tarama}} > 1$ ise: Ek 9 standart bilgi gereklilikleri (omurgasızlar, mikro organizmalar ve bitkiler) uyarınca kısa süreli toksisite testleri gerçekleştirilir, $PNEC_{\text{toprak}}$ değerinin türetilmesi için en düşük değer seçilir</p>	<p>$PEC/PNEC_{\text{tarama}} < 1$ ise ve doğrulayıcı kısa süreli toprak toksisite testinden risk belirtisi yoksa: Toprak organizmaları için başka toksisite testinin yapılmasına gerek yoktur</p> <p>$PEC/PNEC_{\text{tarama}} > 1$ ise ve doğrulayıcı kısa süreli toprak toksisite testinden risk belirtisi varsa: Ek 9 standart bilgi gereklilikleri (omurgasızlar, mikro organizmalar ve bitkiler) uyarınca kısa süreli toksisite testleri gerçekleştirilir, $PNEC_{\text{toprak}}$ değerinin türetilmesi için en düşük değer seçilir</p>	<p>$PEC/PNEC_{\text{tarama}} < 1$ ise ve doğrulayıcı uzun süreli toprak toksisite testinden risk belirtisi yoksa: Toprak organizmaları için başka toksisite testinin yapılmasına gerek yoktur</p> <p>$PEC/PNEC_{\text{tarama}} > 1$ ise ve doğrulayıcı uzun süreli toprak toksisite testinden risk belirtisi varsa: Ek 10 standart bilgi gerekliliklerine (omurgasızlar ve bitkiler) göre uzun süreli toksisite testleri gerçekleştirilir, $PNEC_{\text{toprak}}$ değerinin türetilmesi için en düşük değer seçilir</p>	<p>Ek 10 standart bilgi gerekliliklerine (omurgasızlar ve bitkiler) göre uzun süreli toksisite testleri gerçekleştirilir, $PNEC_{\text{toprak}}$ değerinin türetilmesi için en düşük değer seçilir</p>
<p>$PNEC_{\text{toprak}}$ iyileştirme seçenekleri (ayrıca PEC_{toprak} iyileştirme düşünülür)</p>	<p>$PEC_{\text{toprak}} / PNEC_{\text{toprak}} < 1$ ise:</p> <p>Toprak organizmaları için ilave uzun süreli toksisite testlerinin gerçekleştirilmesine gerek yoktur</p> <p>$PEC_{\text{toprak}} / PNEC_{\text{toprak}} > 1$ ise:</p> <p>Toprak organizmaları üzerinde ilave veya yüksek kademe test gerçekleştirilir</p>	<p>$PEC_{\text{toprak}} / PNEC_{\text{toprak}} < 1$ ise:</p> <p>Toprak organizmaları için ilave uzun süreli toksisite testlerinin gerçekleştirilmesine gerek yoktur</p> <p>$PEC_{\text{toprak}} / PNEC_{\text{toprak}} > 1$ ise:</p> <p>Toprak organizmaları üzerinde ilave veya yüksek kademe test gerçekleştirilir</p>	<p>$PEC_{\text{toprak}} / PNEC_{\text{toprak}} < 1$ ise:</p> <p>Toprak organizmaları için ilave uzun süreli toksisite testlerinin gerçekleştirilmesine gerek yoktur</p> <p>$PEC_{\text{toprak}} / PNEC_{\text{toprak}} > 1$ ise:</p> <p>Toprak organizmaları üzerinde ilave veya yüksek kademe test gerçekleştirilir</p>	<p>$PEC_{\text{toprak}} / PNEC_{\text{toprak}} < 1$ ise:</p> <p>Toprak organizmaları için ilave uzun süreli toksisite testlerinin gerçekleştirilmesine gerek yoktur</p> <p>$PEC_{\text{toprak}} / PNEC_{\text{toprak}} > 1$ ise: Toprak organizmaları üzerinde ilave veya daha yüksek kademe test yürütülür</p>

R.7.11.7 Referanslar

ASTM (1993) Karasal toprak-çekirdek mikrokozmu testi yapılması için standart rehber. Amerikan Test ve Materyaller Topluluğu. Yıllık Standartlar Kitabı 1197: 546-57.

Candolfi ve ark. (2000) Hedef olmayan eklem bacaklılar bulunan bitki koruma ürünleri için düzenleyici testler ve risk değerlendirmesi hakkında rehber doküman. ESCORT 2 çalıştayından. SETAC-Avrupa ve EC ile birlikte organize edilen ortak bir BART, EPPO/CoE, OECD ve IOBC Çalıştayı.

Cortet J, Joffre R, Elmholt S ve Krogh PH (2003) Increasing species and trophic diversity of mesofauna affects fungal biomass, mesofauna community structure and organic matter decomposition processes (Mezofaunanın artan türleri ve trofik çeşitliliğinin, mantar biyokütlesini, mezofauna topluluk yapısını ve organik madde bozunma süreçlerini etkilemesi). Biol Fert Soil 37:302-12.

CSTEE (2000) Toksikite, ekotoksikite ve çevre bilim kurulu: Kimyasalların karasal ekosistemler üzerindeki potansiyel etkilerini ve risklerini değerlendirmek için mevcut bilimsel yaklaşımlar hakkında görüş. Görüş 19. CSTEE genel kurul toplantısında sunulmuştur - Brüksel, 9 Kasım 2000.

De Jong FMW, van Beelen P, Smit CE ve Montforts MHMM (2006) Toprak solucanı saha çalışmalarını özetlemek için rehber, Hollanda Yüksek Kademeli Çalışmaları Değerlendirme Platformu, RIVM rehber dokümanı.

Di Toro DM, Zarba CS, Hansen DJ, Berry WJ, Schwarz RC, Cowan CE, Pavlou SP, Allen HE, Thomas NA ve Paquin PR (1991) Technical basis of establishing sediment quality criteria for non-ionic organic chemicals using equilibrium partitioning (Denge dağılım kullanarak iyonik olmayan organik kimyasallar için çökelti kalite kriterleri oluşturmanın teknik temeli). Environ Toxicol Chem 10:1541-83.

Edwards CA, Knacker T, Pokarshevskii AA, Subler S ve Parmelee R (1997) Use of soil microcosms in assessing the effects of pesticides on soil ecosystems (Pestisitlerin toprak ekosistemleri üzerindeki etkilerinin değerlendirilmesinde toprak mikrokozmlarının kullanımı). Kaynak: Environmental behaviour of crop protection chemicals (Ekin koruma kimyasallarının çevresel davranışı). Uluslararası Atom Enerjisi Ajansı, Viyana, 435-451.

AB (2003) Yeni bildirilen maddeler için Risk Değerlendirmesine ilişkin 93/67/EEC sayılı Komisyon Direktifi, mevcut maddeler için Risk Değerlendirmesine ilişkin 1488/94 sayılı Komisyon Yönetmeliği (EC) ve biyosidal ürünlerin piyasaya arzına ilişkin Avrupa Parlamentosu ve Konseyinin 98/8/EC sayılı Direktifini destekleyen Teknik Rehber Doküman. (http://ihcp.jrc.ec.europa.eu/our_activities/public-health/risk_assessment_of_Biocides/doc/tgd/)

Gorsuch J, Merrington G ve Welp G (2006) Environmental Toxicology and Chemistry Cilt 25 no 3 Özel sayı: Risk Assessment on Metals (Metaller Üzerine Risk Değerlendirmesi).

ISO (1993) Toprak Kalitesi - Kirleticilerin toprak solucanları (*Eisenia fetida*) üzerindeki etkileri. Bölüm 1: Yapay toprak substratı kullanılarak akut toksikite belirlenmesi. Uluslararası Standartlar Organizasyonu. Rehber no. 11268-1.

ISO (1997a) Toprak kalitesi - Biyolojik yöntemler - Toprakta azot mineralleşmesi ve nitrifikasyonunun belirlenmesi ve kimyasalların bu süreçlere etkisi. Uluslararası Standartlar Organizasyonu. Rehber no. 14238.

ISO (1997b) Toprak kalitesi - Aerobik koşullar altında topraktaki organik kimyasalların mineralizasyonunu ölçmek için laboratuvar inkübasyon sistemleri. Uluslararası Standartlar Organizasyonu. Rehber no. 14239.

ISO (1998) Toprak Kalitesi - Kirleticilerin toprak solucanları (*Eisenia fetida*) üzerindeki etkileri. Bölüm 2: Üreme üzerindeki etkilerin belirlenmesi. Uluslararası Standartlar Organizasyonu. Rehber no. 11268-2.

ISO (1999a) Toprak Kalitesi - Toprak kirleticileri tarafından Collembola (*Folsomia candida*) üremesinin inhibisyonu. Uluslararası Standartlar Organizasyonu. Rehber no. 11267.

ISO (1999b) Toprak kalitesi - kirleticilerin toprak solucanları üzerindeki etkileri. Bölüm 3: Saha durumlarında etkilerin belirlenmesi için rehber. Uluslararası Standartlar Organizasyonu. Rehber no. 11268-3.

ISO (2002) Toprak kalitesi - Solunum eğrilerini kullanarak toprak mikro florasının bolluğunun ve aktivitesinin belirlenmesi. Uluslararası Standartlar Organizasyonu. Rehber no. 17155.

ISO (2004a) Toprak kalitesi - Potansiyel nitrifikasyonun ve nitrifikasyonun inhibisyonunun belirlenmesi - Amonyum oksitlenmesi ile hızlı test. Uluslararası Standartlar Organizasyonu. Rehber no. 15685.

ISO (2004b) Toprak kalitesi - Kirleticilerin Enchytraeidae (*Enchytraeus sp.*) üzerindeki etkileri - Üreme ve hayatta kalma üzerindeki etkilerin belirlenmesi. Uluslararası Standartlar Organizasyonu. Rehber no. 16387.

ISO (2005a) Toprak kalitesi - Biyolojik yöntemler - Daha yüksek bitkilerde kronik toksisite. Uluslararası Standartlar Organizasyonu. Rehber no. 22030.

ISO (2005b) Toprak kalitesi - Kirleticilerin toprak florası üzerindeki etkilerinin belirlenmesi - Bölüm 2: Kimyasalların yüksek bitkilerin çıkışı ve büyümesi üzerindeki etkileri. Uluslararası Standartlar Organizasyonu. Rehber no.11269-2.

Jänsch S, Amorim MJ ve Römbke J (2006) Identification of the ecological requirements of the most important terrestrial ecotoxicological test species (En önemli karasal ekotoksikolojik test türlerinin ekolojik gerekliliklerinin belirlenmesi). Environ Rev 13:51-83.

Knacker T, van Gestel CAM, Jones SE, Soares AMVM, Schallnass H-J, Förster B ve Edwards CA (2004) Ring-Testing and Field-Validation of a Terrestrial Model Ecosystem (TME) – An Instrument for Testing Potentially Harmful Substances: Conceptual Approach and Study Design (Bir Karasal Model Ekosisteminin (TME) Halka Testi ve Saha Doğrulaması - Potansiyel Olarak Zararlı Maddeleri Test Etmek İçin Bir Araç: Kavramsal Yaklaşım ve Çalışma Tasarımı). Ecotoxicology 13:9-27

Løkke H ve van Gestel CAM (Ed.) (1998) Handbook of Soil Invertebrate Toxicity Tests. Ecological and Environmental Toxicology Series (Toprak Omurgasız Toksikite Testleri El Kitabı. Ekolojik ve Çevresel Toksikoloji Serisi), John Wiley and Sons Publishers, Chichester, İngiltere.

Morgan E ve Knacker T (1994) The role of laboratory terrestrial model ecosystems in the testing of potential harmful substances (Potansiyel zararlı maddelerin test edilmesinde laboratuvar karasal model ekosistemlerinin rolü). Ecotoxicology 3:213-33.

OECD (1984) Toprak Solucanı Akut Toksikite Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD). Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi No.207, Paris.

OECD (2000a) Toprak Mikroorganizmaları: Azot Dönüşüm Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD). Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi No.216, Paris.

OECD (2000b) Toprak Mikroorganizmaları: Karbon Dönüşümü Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD). Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi No.217, Paris.

OECD (2004a) Toprak Solucanı Üreme Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD). Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi No.222, Paris.

OECD (2004b) Enchytraeid Üreme Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD). Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi No.220, Paris.

OECD (2006) Ekotoksosite verilerinin istatistiksel analizinde mevcut yaklaşımlar: bir uygulama rehberi. Test ve Değerlendirme Üzerine OECD Serisi, No. 54 (ENV/JM/MONO(2006)18).

OECD (2006a) Karasal Bitki Testi: Fide Çıkışı ve Fide Büyüme Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD). Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi No.208, Paris.

OECD (2006b) Karasal Bitki Testi: Bitkisel Canlılık Testi. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü (OECD). Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberi No.227, Paris.

OECD (2006c) Ekotoksosite Verilerinin İstatistiksel Analizinde Güncel Yaklaşımlar: Uygulama Rehberi. Belge No. 54.

Oorts K, Ghesquière U, Swinnen K ve Smolders E (2006) Soil properties affecting the toxicity of CuCl₂ and NiCl₂ for soil microbial processes in freshly spiked soils (Yeni kimyasal eklenmiş topraklarda toprak mikrobiyal işlemleri için CuCl₂ ve NiCl₂'nin toksisitesini etkileyen toprak özellikleri). Environl Toxicol Chem 25:836-44.

Parmelee RW, Phillips CT, Checkai RT ve Bohlen PJ (1997) Determining the effects of pollutants on soil faunal communities and trophic structure using a refined microcosm system (Kirlenici maddelerin topraktaki faunal topluluklar ve trofik yapı üzerindeki etkilerinin rafine bir mikrokozmoz sistemi kullanarak belirlenmesi). Environmental. Toxicol Chem 16:1212-7.

Römbke J, Knacker T, Förster B ve Marcinkowski A (1994) Comparison of effects of two pesticides on soil organisms in laboratory tests, microcosms and in the field (Laboratuvar testlerinde, mikro kozmlarda ve sahada iki pestisitinin toprak organizmaları üzerindeki etkilerinin karşılaştırılması). *Kaynak:* Donker M, Eijsackers H ve Heimbach F (Ed.) Ecotoxicology of soil organisms (Toprak organizmalarının ekotoksikolojisi). Lewis Publ., Chelsea, Michigan, s. 229-240.

Spurgeon DJ, Svendsen C, Hankard PK, Toal M, McLennan D, Wright J, Walker L, Ainsworth G, Wienberg C ve Fishwick SK (2004) Application of sublethal ecotoxicological tests for measuring harm in terrestrial ecosystems (Karasal ekosistemlerdeki zararı ölçmek için ölümcül olmayan ekotoksikolojik testlerin uygulanması). AR-GE Teknik Raporu P5-063/TR2. Ekoloji ve Hidroloji Merkezi ve Çevre Ajansı.

Scott-Fordsmann J ve Damgaard C (2006) Uncertainty analysis of single concentration exposure data for risk assessment- introducing the species effect distribution (SED) approach (Risk değerlendirmesi için tek konsantrasyon maruz kalma verilerinin belirsizlik analizi - tür etki dağılımı (SED) yaklaşımı). Environ Toxicol Chem 25:3078-81.

Sverdrup LE, Jensen J, Kelley AE, Krogh PH ve Stenersen J (2002) Effects of eight polycyclic aromatic compounds on the survival and reproduction of *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta, Clitellata) (Sekiz polisiklik aromatik bileşiğin *Enchytraeus crypticus* (Oligochaeta, Clitellata) hayatta kalması ve çoğalması üzerindeki etkileri). *Environ Toxicol Chem* 21:109–14.

Van den Brink PJ ve Ter Braak CJF (1999) Principal response curves: Analysis of time-dependent multivariate responses of biological community to stress (Temel cevap eğrileri: Biyolojik topluluğun strese karşı zamana bağlı çok değişkenli cevaplarının analizi). *Environ Toxicol Chem* 18:138-48.

van Gestel CAM, Ma WC ve Smith CE (1990) An approach to quantitative structure- activity relationships in terrestrial ecotoxicology: earthworm toxicity studies (Karasal ekotoksikolojide nicel yapı-aktivite ilişkilerine bir yaklaşım: toprak solucanı toksisite çalışmaları). *Chemosphere* 21:1023-33.

van Gestel CAM (1992) The influence of soil characteristics on the toxicity of chemicals for earthworms: a review (Toprak özelliklerinin toprak solucanları için kimyasalların toksisitesi üzerindeki etkisi: bir inceleme). *Kaynak: Greig-Smith PW, Becker H, Edwards PJ ve Heimbach F (Ed.), Ecotoxicology of Earthworms (Toprak Solucanlarının Ekotoksikolojisi), Intercept, Andover, İngiltere, s. 44-54.*

van Gestel CAM ve Ma W (1993). Development of QSARs in soil ecotoxicology: earthworm toxicity and soil sorption of chlorophenols, chlorobenzenes and chloroanilines (Toprak ekotoksikolojisinde QSAR geliştirilmesi: solucan toksisitesi ve klorofenollerin, klorobenzenlerin ve kloroanilinlerin toprak emilimi). *Water Air Soil Poll* 69:265-76.

Van Gheluwe M (2006) MERAG – Metal Environmental Risk Assessment. (MERAG – Metal Çevresel Risk Değerlendirmesi)

Wang X, Dong Y, Han S ve Wang L (2000) Structure-phytotoxicity relationship: Comparative inhibition of selected nitrogen-containing aromatics to root elongation of *Cucumis sativus* (Yapı-fitotoksosite ilişkisi: *Cucumis sativus*'un kök uzamasına karşı seçilen azot içeren aromatiklerin karşılaştırmalı inhibisyonu). *Bull Environ Contam Toxicol* 65:435-42.

Xu S, Li L, Tan Y, Feng J, Wei Z ve Wang L (2000) Prediction and QSAR Analysis of Toxicity to *Photobacterium phosphoreum* for a Group of Heterocyclic Nitrogen Compounds (Bir Grup Heterosiklik Azot Bileşiği için *Photobacterium phosphoreum*'a Toksisitenin Tahmini ve QSAR Analizi). *Bull Environ Contam* 64:316-22.

Bölüm R.7.11 için Ek

Ek R.7.11-1

Seçilmiş Toprak Test Metodolojileri

Ek R.7.11-1

Seçilmiş Toprak Test Metodolojileri

Tablo R.7.11—3 Seçilmiş Toprak Test Metodolojileri

Test Organizması	Süre	Sonlanma noktaları	Referans/Kaynak	Yorumlar
Mikrobiyal Süreçler				
Mikrobiyal Süreçler Azot-Dönüşümü	≥28 gün	M	(i) OECD 216 Toprak Mikroorganizmaları, Azot Dönüşüm Testi (2000). (ii) ISO 14238 Toprak kalitesi - Biyolojik yöntemler: Toprakta azot mineralleşmesi ve nitrifikasyonunun belirlenmesi ve kimyasalların bu süreçlere etkisi (1997).	Toprak mikroflorası nitrat üretimine dayanır. Toprakta cm ² başına 10 milyona kadar bakteri bulunur. Bu, hektar başına birkaç tona karşılık gelir.
Mikrobiyal Süreçler Karbon Dönüşümü	≥28 gün	M	(i) OECD 217 Toprak Mikroorganizmaları, Karbon Dönüşüm Testi (2000). (ii) ISO 14239 Toprak kalitesi - Aerobik koşullar altında topraktaki organik kimyasalların mineralizasyonunu ölçmek için laboratuvar inkübasyon sistemleri (1997).	Toprak mikroflorası solunum hızına dayanır. Toprakta cm ² başına 10 milyona kadar bakteri bulunur. Bu, hektar başına birkaç tona karşılık gelir.

Test Organizması	Süre	Sonlanma noktaları	Referans/Kaynak	Yorumlar
Omurgasız Faunası				
<p><i>Eisenia fetida/andrei</i></p> <p>(Oligochaeta-kara ve tatlı su solucangilleri)</p>	7-14 gün	S	<p>(i) OECD 207 Toprak solucanı akut toksisite testleri (1984).</p> <p>(ii) ISO 11268-1 Toprak Kalitesi - Kirleticilerin toprak solucanları (<i>Eisenia fetida</i>) üzerindeki etkileri. Bölüm 1: Yapay toprak substratı kullanılarak akut toksisitenin belirlenmesi (1993). (iii) EEC (1985) 79/831. (iv) ASTM E1676-97 Lumbricid toprak solucanı <i>Eisenia fetida</i> ile laboratuvar toprak toksisitesi veya biyobirikim testleri yürütmek için standart rehber (1997).</p>	<p>Yetişkin sağkalımı 1-2 hafta sonra değerlendirilir.</p> <p>Önemli ekolojik fonksiyon (maddenin toprağa katılması yoluyla bozunma ve mineralleşmeyi artırma).</p> <p>Önemli gıda kaynağı ve yüksek organizmalar tarafından biyobirikim için potansiyel yol.</p> <p>Büyük boyut/kullanım kolaylığı.</p> <p>Laboratuvarda kolaylıkla kültürlenir/muhafaza edilir.</p> <p>Ölü örtüde yaşayan epigeik türleri.</p> <p>Karasal ekotoksikoloji için standart test organizması.</p> <p>Lumbricidae, biyokütle açısından toprak canlılarının (toprak biyotası) %12'sini oluşturur ve bu nedenle önemli av türleridir.</p>

Test Organizması	Süre	Sonlanma noktaları	Referans/Kaynak	Yorumlar
<i>Eisenia fetida/andrei</i> (Oligochaeta-kara ve tatlı su solucangilleri)	28gün + 28gün	S/G/R	(i) OECD (2004). Toprak Solucanı Üreme Testi. (ii) ISO 11268-2 Toprak Kalitesi - Kirleticilerin Toprak Solucanları (<i>Eisenia fetida</i>) Üzerindeki Etkileri. Bölüm 2: Üreme Üzerindeki Etkilerin Belirlenmesi (1998). (iii) EPA (1996). Ekolojik Etkiler Test Rehberleri. OPPTS 850.6200 Toprak Solucanı Subkronik Toksikite Testi. ABD EPA, Önleme, Pestisitler ve Toksik Maddeler (7104). EPA712-C-96-167, Nisan 1996. (iv) Kula ve Larink (1998). Toprak solucanları <i>Eisenia fetida</i> ve <i>Aporrectodea caliginosa</i> üzerinde yapılan testler. Kaynak: "Handbook of Soil Invertebrates (Toprak Omurgasızları El Kitabı)" (Ed. Hans Lökke ve Cornelis A.M. Van Gestel). John Wiley and Sons: Chichester, İngiltere.	Yetişkin büyüme ve hayatta kalması, 4 hafta sonra değerlendirilir. Üreme (yavru sayısı) 4 hafta daha sonrasında (toplam 8 hafta) değerlendirilir. Nispeten uzun nesil süresi (8 hafta). Önemli ekolojik fonksiyon (maddenin toprağa katılması yoluyla bozunma ve mineralleşmeyi arttırma). Önemli gıda kaynağı ve yüksek organizmalar tarafından biyobirikim için potansiyel yol. Büyük boyut/kullanım kolaylığı. Laboratuvarda kolaylıkla kültürlenir/muhafaza edilir. Ölü örtüde yaşayan epigeik türleri. Karasal ekotoksikoloji için standart test organizması. Lumbricidae, biyokütle açısından toprak canlılarının (toprak biyotası) %12'sini oluşturur ve bu nedenle önemli av türleridir.

Test Organizması	Süre	Sonlanma noktaları	Referans/Kaynak	Yorumlar
<i>Aporrectodea caliginosa</i> (Oligochaeta)		S/G/R	Kula ve Larink (1998). Toprak solucanları <i>Eisenia fetida</i> ve <i>Aporrectodea caliginosa</i> üzerinde yapılan testler. Kaynak: "Handbook of Soil Invertebrates (Toprak Omurgasızları El Kitabı)" (Ed. Hans Løkke ve Cornelis A.M. Van Gestel). John Wiley and Sons: Chichester, İngiltere.	<p>Ölüm oranı, büyüme ve koza sayısı 4 hafta sonra değerlendirilir.</p> <p>Nispeten yavaş üreme döngüsü.</p> <p>Kültürlerin bakımı zordur.</p> <p>Yatay oyuklu (endojeik) mineral toprak türüdür.</p> <p>Mantarları, bakterileri ve algleri sindiren seçici beslenicilerdir.</p> <p>Tarımsal ekosistemlerde baskındır. m² başına 10 - 250 adet mevcuttur.</p>
<i>Enchytraeus albidus</i> (Oligochaeta)	21 - 42 gün	S/R	(i) OECD (2004). OECD 220 <i>Enchytraeidae</i> Üreme Testi. (ii) ISO 16387 Toprak kalitesi - Toprak kirleticilerin enchytraeid üzerindeki etkileri: Üreme ve sağkalım üzerindeki etkilerin belirlenmesi (2004).	<p>Yetişkin ölüm oranı 3 hafta sonra değerlendirilir.</p> <p>Üreme (yavru sayısı) 3 hafta sonra (toplam 6 hafta) değerlendirilir.</p> <p>Toprak solucanlarından daha kısa nesil süresi.</p> <p>Kullanım/kültür kolaylığı.</p> <p><i>Enchytraeidae</i>, bozunan bitki materyali ve ilişkili mikro organizmalar olan mantarlar, bakteriler ve algler ile beslenir.</p> <p><i>Enchytraeid</i>, toprak solucanlarının genellikle bulunmadıkları da dahil olmak üzere birçok toprak tipinde bol miktarda bulunur. Toprak biyotasının (edaphon) kütlece (m² başına 50 g'a kadar) yaklaşık %0,5'ini oluştururlar. Bu, m² başına yaklaşık 100.000'e karşılık gelir.</p>

Test Organizması	Süre	Sonlanma noktası	Referans/Kaynak	Yorumlar
<i>Cognettia sphagnetorum</i> (Oligochaeta)	70 gün	G/R	Rundgren ve Augustsson (1998). Enchytraeid <i>Cognettia sphagnetorum</i> üzerinde test. Kaynak: "Handbook of Soil Invertebrates (Toprak Omurgasızları El Kitabı)" (Ed. Hans Løkke ve Cornelis A.M. Van Gestel). John Wiley and Sons: Chichester, İngiltere.	<p>Ölüm oranı ve eşeysiz üreme (yetişkinlerin bölünme oranı) 10 hafta boyunca haftalık olarak belirlenir.</p> <p>Kültürlenmesi kolaydır.</p> <p>Enchytraeidae, bozulan bitki materyali ve ilişkili mikro organizmalar olan mantarlar, bakteriler ve algler ile beslenir.</p> <p>C. spagnetorum bataklıklarda, ormanlarda ve diğer yüksek oranda organik habitatlarda yaygındır. m² başına 10.000 - 25.000 arasında bulunurlar.</p>
<i>Folsomia candida</i> (Collembola)	28gün	S/R	ISO 11267 Toprak Kalitesi - Collembola üreme inhibisyonu (<i>Folsomia candida</i>) (1984).	<p>4 hafta sonra hayatta kalma ve üreme.</p> <p>Kısa nesil süresi.</p> <p>Kültür kolaylığı.</p> <p>Siçrar kuyruklular, toprakta organik madde parçalanmasında ve besin geri dönüşümünde rol oynayan önemli toprak ölü örtüsü eklembacaklılarıdır.</p> <p>Bakteri ve mantarlarla beslenir.</p> <p>Siçrar kuyruklular, m² başına 40.000 ila 70.000 arasında bulunan en bol toprak faunasıdır. Akarlar, kırkayaklar, örümcekler ve karafatmalar gibi epigeik omurgasızlar için avdır.</p>

Test Organizması	Süre	Sonlanma noktaları	Referans/Kaynak	Yorumlar
<i>Isomtoma viridis</i> , <i>Folsomia candida</i> ve <i>Folsomia fimetaria</i> (Collembola)	28 - 56 gün	S/G/R	Willes ve Krogh (1998). Sığırar kuyruklu türleri <i>Isomtoma viridis</i> , <i>Folsomia candida</i> ve <i>Folsomia fimetaria</i> ile yapılan testler. Kaynak: "Handbook of Soil Invertebrates (Toprak Omurgasızları El Kitabı)" (Ed. Hans Løkke ve Cornelis A.M. Van Gestel). John Wiley and Sons: Chichester, İngiltere.	Hayatta kalma ve üreme haftalık olarak değerlendirilir (bkz. ISO protokolü). Deri ve sindirim sistemi alımı. Sığırar kuyruklular, toprakta organik madde parçalanmasında ve besin geri dönüşümünde rol oynayan önemli toprak ölü örtüsü eklembacaklılarıdır. Bakteri ve mantarlarla beslenir. En bol toprak faunası, m ² başına 10.000 ila 50.000 arasında bulunur. Akarlar, kırkayaklar, örümcekler ve karafatmalar gibi epigeik omurgasızlar için avdır.
<i>Folsomia Fimetaria</i> (Collembola) avlayan <i>Hypoaspis Aculeifer</i> (Gamasiid akarı)	21 gün	S/G/R	Krogh ve Axelson (1998). Sığırar kuyruklu <i>Folsomia Fimetaria</i> avlayan yırtıcı akar <i>Hypoaspis Aculeifer</i> üzerinde test. Kaynak: "Handbook of Soil Invertebrates (Toprak Omurgasızları El Kitabı)" (Ed. Hans Løkke ve Cornelis A.M. Van Gestel). John Wiley and Sons: Chichester, İngiltere.	Ölüm oranı, büyüme ve yavru sayısı üç hafta sonra değerlendirilir. Doğal av-avcı ilişkisi. Enchytraeid, nematodlar ve mikro eklembacaklılarla beslenen yırtıcı tür. Parazitik nematodların kontrolünde önemli rol. Gamasioda akarları, m ² başına 5 - 10.000 adet bulunur.

Test Organizması	Süre	Sonlanma noktaları	Referans/Kaynak	Yorumlar
<i>Porcellio scaber</i> (Isopoda)	28 - 70 gün	S/G/R	Hornung ve ark. (1998). İzopod <i>Porcellio scaber</i> üzerinde test. Kaynak: "Handbook of Soil Invertebrates (Toprak Omurgasızları El Kitabı)" (Ed. Hans Løkke ve Cornelis A.M. Van Gestel). John Wiley and Sons: Chichester, İngiltere.	<p>Hayatta kalma ve biyokütle 4 hafta sonra belirlenir (haftalık ölçümler).</p> <p>Üreme (oosit sayısı, %gebe dişiler, yavru bırakan dişilerin yüzdesi, yavru sayısı) 10 hafta sonra belirlenir.</p> <p>Dozlanmış gıda veya toprak yoluyla beslenme alımı.</p> <p>İzopod tahta biti türü. Makro-bozundurucular, ölü organik materyal besin zincirinin önemli bir parçasıdır.</p> <p>Kırkayaklar için önemli av türü.</p> <p>İzopodların tahmini nüfus yoğunluğu m² başına 500 - 1500'dür.</p>
<i>Brachydesmus superus</i> (Diplopoda)	70 gün	S/R	Tajovsky (1998). Çift ayaklı <i>Brachydesmus superus</i> üzerinde test. Kaynak: "Handbook of Soil Invertebrates (Toprak Omurgasızları El Kitabı)" (Ed. Hans Løkke ve Cornelis A.M. Van Gestel). John Wiley and Sons: Chichester, İngiltere.	<p>Haftalık olarak hayvan sayısı, yuva sayısı, yumurta sayısı ve yavru sayısı belirlenir.</p> <p>Kültürü yıl boyunca sürdürmek zordur.</p> <p>Dozlanmış gıda veya toprak yoluyla beslenme alımı.</p> <p>Çift ayaklılar, yaprak döküntüsü ve organik ölü materyalin önemli birincil ayrıştırıcılarıdır.</p> <p>Dışkı peletleri, mantarlar ve mikro eklembacaklılar gibi mikro organizmalar için bir mikro ortam sağlar.</p> <p>Karafatmalar, kırkayaklar ve örümcekler ile böcekçil kuşlar ve memeliler için önemli bir avdır.</p> <p>Diplopoda, m² başına 10 - 100 adet bulunur.</p>

Test Organizması	Süre	Sonlanma noktaları	Referans/Kaynak	Yorumlar
<i>Lithobius mutabilis</i> (Chilopoda)	28 - 84 gün	S/G/L/ M	Laskowski ve ark. (1998). Kırkayak <i>Lithobius mutabilis</i> üzerinde test. Kaynak: " <i>Handbook of Soil Invertebrates (Toprak Omurgasızları El Kitabı)</i> " (Ed. Hans Løkke ve Cornelis A.M. Van Gestel). John Wiley and Sons: Chichester, İngiltere.	Ölüm oranı, biyokütle, solunum hızı ve lokomotor aktivite 4 hafta (bozunabilen maddeler) ile 12 hafta (kalıcı maddeler) sonra belirlenir. Besin zinciri etkisi, dozlanmış av (sinek larvaları) kullanılarak ölçülmüştür. Kırkayaklar, küçük solucanlar, çift ayaklılar, tahta bitleri ve sıçrar kuyruklularla beslenen önemli etçil eklembacaklılardır. Sırasıyla kuşlar ve memeliler için av oluştururlar. Chilopoda, m ² başına 100 adete kadar bulunur.
<i>Philonthus cognatus</i> (Coleoptera)	42 - 70 gün	S/R	Metge ve Heimbach (1998). Staphylinid <i>Philonthus cognatus</i> üzerinde test. Kaynak: " <i>Handbook of Soil Invertebrates (Toprak Omurgasızları El Kitabı)</i> " (Ed. Hans Løkke ve Cornelis A.M. Van Gestel). John Wiley and Sons: Chichester, İngiltere.	Böcekler, 6-10 hafta boyunca yumurta üretimi ve kuluçka hızı üzerindeki müteakip etkiyi belirlemek için bir hafta süreyle maruz bırakılır. Ölüm oranı da değerlendirilebilir. Sıçrar kuyruklular, yaprak bitleri, iki kanatlı (dipteran) ve kınkanatlı (coleopteran) larvalarının avcıları. Kuşlara, farelere ve büyük eklembacaklılara av. Tahmini yoğunluk 2 - 5 m ² başına 1 yetişkindir.

Test Organizması	Süre	Sonlanma noktaları	Referans/Kaynak	Yorumlar
<i>Plectus acuminatus</i> (Nematoda) ve <i>Heterocephalobus pauciannulatus</i> (Nematoda) arasında rekabet	14 gün	S/R	Kammenga ve Riksen (1998). Nematodlar <i>Plectus acuminatus</i> ve <i>Heterocephalobus pauciannulatus</i> arasındaki rekabetin testleri. Kaynak: "Handbook of Soil Invertebrates (Toprak Omurgasızları El Kitabı)" (Ed. Hans Løkke ve Cornelis A.M. Van Gestel). John Wiley and Sons: Chichester, İngiltere.	<p>İki bakteri yiyen nematod türü arasındaki rekabet.</p> <p>Oran iki hafta sonra belirlenir.</p> <p>Nematodlar organik materyallerin bozunma ve döngüsünde önemlidir.</p> <p>Toprakta bol miktardadır ve kolaylıkla alınır ve kültürlenir.</p> <p>Nematodlar, mezofaunanın en bol bulunan elementidir ve toprak biyokütlesinin (edaphon) kütlece %2'sini oluşturur. Bu, m² başına yaklaşık 10 milyona karşılık gelir.</p>
<i>Caenorhabditis elegans</i> (Nematoda)	1 gün	S	(i) Donkin ve Dusenbury (1993). Nematod <i>Caenorhabditis elegans</i> kullanılarak yapılan bir toprak toksisite testi ve etkili bir geri kazanım yöntemi. <i>Arch. Environ. Contam. Toxicol.</i> 25, 145-151. (ii) Freeman ve ark. (1999). Nematod <i>Caenorhabditis elegans</i> kullanılan bir toprak biyoanalizi. ASTM STP 1364. (iii) Peredney ve Williams (2000). Yapay toprakta ağır metal kontaminasyonunu değerlendirmek için <i>Caenorhabditis elegans</i> faydası. <i>Arch. Environ. Contam. Toxicol.</i> 39, 113-118.	<p>Ölüm oranı 1 gün sonra değerlendirilir.</p> <p>Organik malzemelerin bozunma ve döngüsünde önemlidir.</p> <p>Toprakta bol miktardadır ve kolaylıkla alınır ve kültürlenir.</p> <p>Nematodlar, mezofaunanın en bol bulunan elementidir ve toprak biyokütlesinin (edaphon) kütlece %2'sini oluşturur. Bu, m² başına yaklaşık 10 milyon veya m² başına 1 grama karşılık gelir.</p>

Test Organizması	Süre	Sonlanma noktaları	Referans/Kaynak	Yorumlar
<i>Caenorhabditis elegans</i> (Nematoda)	3d	G/R	(i) Neumann-Hensel ve Ahlf (1998). Deutsche Bundesstiftung Umwelt Rapor Numarası 05446. (ii) Höss (2001). Bestimmung der Wirkung von Sediment- und Bodenproben auf Wachstum und Fruchtbarkeit von <i>Caenorhabditis elegans</i> (Nematoda). Taslak DIN standardı.	Büyüme ve üreme 3 gün sonra değerlendirilir. Toprakta bol miktardadır ve kolaylıkla alınır ve kültürlenir. Öldürücü düzeyin altında biyoanaliz (yüksek hayatta kalma, test geçerliliği için bir ön koşuldur). Nematodlar, mezofaunanın en bol bulunan elementidir ve toprak biyokütlesinin (edaphon) kütlece %2'sini oluşturur. Bu, m ² başına yaklaşık 10 milyon veya m ² başına 1 grama karşılık gelir.
Birincil Üreticiler				
Ot ekinleri (tek çenekli bitkiler - buğdaygiller), <i>Brassica</i> spp. (çift çenekli bitkiler - turpgiller) ve fasulye bitkileri (çift çenekli bitkiler - baklagiller) dahil birçok test türü	5 gün, 14 -21 gün	E/G	(i) OECD (2006). OECD 208 Fide çıkışı ve fide büyüme testi ve OECD 227: Bitkisel canlılık testi. (ii) ISO 11269- 1: Toprak kalitesi - Kirleticilerin toprak florası üzerindeki etkilerinin belirlenmesi - Bölüm 1: Kök büyümesi inhibisyonunun ölçülmesi için yöntem (1993). (iii) ISO 11269-2 Toprak kalitesi - Kirleticilerin toprak florası üzerindeki etkilerinin belirlenmesi - Bölüm 2: Kimyasalların yüksek bitkilerin ortaya çıkışı ve büyümesi üzerindeki etkileri (1995). (iv) ASTM E1963-98 Karasal bitki toksisitesi testleri için standart rehber (1998). ISO 22030: Toprak kalitesi - Biyolojik yöntemler - Yüksek bitkilerde kronik toksisite (2005).	Uygulama görmüş topraklarda tohum çıkışı (E) ve büyümenin (G) erken yaşam aşamaları (208) Yaprak uygulamasından sonra bitkisel canlılık (G) (227). Önceden çimlendirilmiş tohumların kök büyümesi (ISO 11269-1). Minimum üç test türü: bir monokotiledon (tek çenekli) ve iki dikotiledon (çift çenekli) (OECD 208)

Anahtar: S = hayatta kalma; E = ortaya çıkma; G = büyüme; R = üreme; M = metabolizma; L = lokomotor aktivitesi

R.7.12 Toksikokinetik hakkında rehber

R.7.12.1 Bilinmesi gereken açık bilgiler

Bir maddeye maruz kalmadan kaynaklanan toksisite ifadesi, bir organizmanın etkilenen dokularının, olumsuz bir etkiye neden olan miktarlarda nihai toksik maddeyi almasıyla sonuçlanan bir olaylar zincirinin bir sonucudur. Belirli türlere hassasiyet oluşturan ve bu tür kimyasal hasarlara cevaplarında hayvanlar ve insanlar arasında büyük farklılıklara yol açan faktörler, hassas dokuya verilen nihai toksik maddenin doğasına ve miktarına (toksikokinetik, TK) veya bu dokuların nihai toksik maddeye hassasiyetine, yani toksikodinamik (TD) cevaba (ECETOC, 2006) dayanır.

KKDİK Yönetmeliğinde TK bilgisinin oluşturulması için özel bir gereklilik yoktur. Ek 1, Bölüm 1.0.2, "insan sağlığına zararlılığın değerlendirilmesinde maddenin toksikokinetik profilinin (yani emilim, dağılım, metabolizma ve boşaltım) dikkate alınacağını" belirtir. Ayrıca, KKDİK yönetmeliği Ek 8'de (Bölüm 8.8.1) "mevcut ilgili bilgilerden elde edilebildiği kadarıyla, maddenin toksikokinetik davranış değerlendirmesi" gerektiğini belirtir.

TK toksikolojik bir sonlanma noktası olmasa ve KKDİK kapsamında özel olarak talep edilmese de, verileri yorumlamak, test stratejisine ve çalışma tasarımına ve ayrıca kategori geliştirmeye yardımcı olmak ve böylelikle test tasarımlarının optimize edilmesine yardımcı olmak üzere bir araç olarak TK bilgilerinin oluşturulması teşvik edilebilir: Herhangi bir hayvan çalışmasından önce, böyle bir çalışmanın yapılmasından elde edilecek faydaların belirlenmesi çok önemlidir. Fizyolojik tabanlı farmakokinetik/toksikokinetik (PBPK/PBTK) modellerin uygulanabilirliği, bir maddenin TK davranışının anlaşılmasını desteklemek veya genişletmek için de düşünülmelidir (IPCS, 2010). Mevcut verilerden türetilen TK davranışı, diğer özelliklerin öngörülebilirliği açısından daha fazla testi gereksiz kılabilir. Gerçek TK çalışmalarının durum bazında tanımlanması, risk değerlendirmesini mümkün kılmak için özellikler hakkındaki bilgileri yeterince genişletmek açısından madde özellikleri hakkındaki bilgileri daha da geliştirebilir. Genel olarak, kullanılması muhtemel olmayan ve gereksiz bir hayvan, zaman ve kaynak çabası oluşturan verilerin oluşturulmasından, bunu yapmak için herhangi bir destekleyici veri kullanılarak kaçınılmalıdır.

Ayrıca, çapraz okumanın uygulanması ve kategorilerin oluşturulması amacıyla (sonraki) toksisite çalışmalarının tasarımı için önemli bilgiler sağlayabilir. Birlikte ele alındığında, diğer yaklaşımlarla birlikte, TK, KKDİK kapsamında hayvan kullanımının azaltılmasına katkıda bulunabilir.

Bu belgenin amacı, toksikokinetiğin ana ilkelerine genel bir bakış sağlamak ve maddelerin insan sağlığı risk değerlendirmesinde TK bilgilerinin oluşturulması/kullanılması hakkında rehberlik sağlamak ve bu bilgileri, test stratejilerinin daha akıllı hale gelmesini desteklemek için kullanmaktır (Bütünleşik Test Stratejisi, BTS).

TK aşaması maruz kalma ile başlar ve hedef bölgede belirli bir nihai toksik madde konsantrasyonu (doku dozu) ile sonuçlanır. Bu konsantrasyon, maddenin emilimine, dağılımına, metabolizmasına ve boşaltımına (ADME) dayanır (ECETOC, 2006).

ADME, bir maddenin vücuda alımını ve vücuttaki yaşam döngüsünü (boşaltım dahil) açıklar (bkz. AB B.36¹⁹, OECD Test Rehberi 417):

EMİLİM: maddenin vücuda nasıl, ne kadar ve ne kadar hızlı girdiği;

DAĞILIM: organizmanın çeşitli kısımları (vücut sıvıları veya dokuları) arasında geri dönüşümlü madde aktarımı;

METABOLİZMA: ilgili maddenin yapısal olarak farklı bir maddeye (metabolit) enzimatik veya enzimatik olmayan dönüşümü;

BOŞALTIM: ana maddenin ve/veya metabolitlerinin fiziksel kaybı; başlıca boşaltım yolları idrar, safra (dışkı) ve nefele verilen havadır²⁰.

Metabolizma ve boşaltım, **ELİMİNASYON**'un iki bileşenidir ve organizma tarafından fiziksel hareket veya kimyasal dönüşüm yoluyla madde kaybını tanımlar. Tutarlılık için ve aksi belirtilmedikçe, metabolizma, iki kimyasal tür arasında gözlemlenebilir bir denge ile sonuçlanan büyük ölçüde tersinir olan kimyasal dönüşümleri içermez. Son belirtilen olgu, birbirine dönüşüm olarak adlandırılır.

Bir maddenin dolaşım sistemlerine emilimini, vücutta dağılımını, biyodönüşümü ve atılımını takip eden süreçlerin toplamına **DİSPOZİSYON** (atılım) denir.

R.7.12.1.1 Emilim

Toksik maddelerin vücuda girmesinin ana yolları akciğerler, sindirim sistemi (her ikisi de doğası gereği emilim yüzeyleridir) ve deridir. Maddelerin emilebilmesi için biyolojik zarlardan geçmesi gerekir. Bu, çoğunlukla pasif yayılımla gerçekleşir. Biyolojik zarlar, hem lipid hem de sulu fazlardan oluşan tabakalar olarak yapılandığından, bunun gibi bir süreç, bir maddenin hem lipid hem de suda çözünür olmasını gerektirir. Bu kriterleri karşılamayan maddeler için, daha aktif olarak yönlendirilen ve dolayısıyla enerji gerektiren süreçler olan kolaylaştırılmış yayılım, aktif taşıma veya pinositoz yoluyla emilim gerçekleştirilebilir.

R.7.12.1.2 Dağılım

Madde kan dolaşımına girdiğinde, toksik etkisini doğrudan kana veya dolaşım sisteminin taşıma veya dağıtım gerçekleştirdiği herhangi bir hedef doku veya organa uygulayabilir. Dağılım hızını ve hedef dokuları belirleyen, organın içinden geçen kan akışı, maddenin zarları ve kılcal damarları geçme kabiliyeti ve çeşitli dokulara olan bağıl afinitesidir. Çapraz zar transferiyle ilgili olarak, sadece pasif mekanizmalar değil, aynı zamanda taşıma proteinleri (örn. p-glikoprotein) ile aktif taşıma da dikkate alınacaktır, çünkü bu, kan-beyin bariyerini ve başka yerleri (örn. bağırsak) aşmak için özellikle önemlidir.

Dağılım aslında çoklu dengeleri içeren dinamik bir süreçtir: Yalnızca dolaşım sistemi, maddelerin hızla dağıldığı ayrı, kapalı bir *ortamdır*.

¹⁹ bkz. Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik.

²⁰ Anne sütü küçük ama potansiyel olarak önemli bir boşaltım yoludur.

Çeşitli doku ve organlara dağılım genellikle gecikir. Bununla birlikte, genellikle bileşikler, karaciğer, böbrek ve akciğerler gibi yüksek oranda yayılıma sahip dokulara kinetiği kandaki olaylardan ayırt edilemeyecek kadar hızlı dağılır; bu noktada, bu organlar başlangıçtaki, *merkezi* ortamın bir parçası olarak sınıflandırılır ve *çevreleyen ortam*, yavaşça dengelenen dokular (örn.kas, deri ve yağ) için tanımlanır. Hızlı veya merkezi ortam ve yavaş veya çevreleyen ortam arasında serbest madde dengesi vardır. Serbest madde giderildiğinde, çevreleyen ortamdan gelen madde yavaşça dolaşıma (hızlı veya merkezi ortam) geri salınır.

Bedeni farklı *ortamlara* ayıran bu düşünce, fizyolojik tabanlı kinetik (PBK) modellemede kullanılır. Mevcut toksikolojik çalışmaların verilerine dayanarak, doku dağılımı, kan veya plazma ile ilgili doku arasındaki dağılım katsayıları kullanılarak matematiksel olarak hesaplanır.

R.7.12.1.3 Metabolizma veya Biyodönüşüm

Biyodönüşüm vücuttaki bir maddenin davranışını, toksisitesini ve uzaklaştırılma hızı ve yolunu etkileyen ana faktörlerden biridir. Geleneksel olarak biyodönüşüm Aşama I ve Aşama II olmak üzere iki ana aşamaya ayrılır. İşlevselleştirme aşaması olarak adlandırılan Aşama I, lipofilik moleküller üzerinde büyük bir etkiye sahiptir, onları daha polar ve daha kolay atılabilir hale getirir. Genellikle detoksikleştirme olarak adlandırılan Aşama II'de, bu tür işlevselleştirilmiş parçalar, boşaltımdan önce yüksek oranda polar moleküllerle konjuge edilir. Her iki aşama da zara bağlı (mikrozomal proteinler) veya sitozolde bulunan (sitozolik veya çözümlü enzimler) özel enzimler tarafından katalizlenir. Ayrıca, Aşama III'ün konjugatların atılımı ile ilgili olduğu ve ATP²¹'e bağlı plazma membran taşıyıcılarını içerdiği öne sürülmüştür.

Çoğu madde potansiyel olarak biyodönüşüme karşı hassastır ve tüm hücreler ve dokular potansiyel olarak bileşikleri biyodönüştürme kapasitesine sahiptir. Bununla birlikte, bu biyodönüşümün ana bölgeleri substrata ve yola bağlıdır; genel olarak, karaciğer ve vücudun giriş yolları, dikkate alınması gereken ana biyodönüşüm bölgeleridir. Özellikle, farklı dokularda metabolize edici enzimlerin varlığında ve ayrıca aynı organdaki farklı hücreler arasında değişkenlikler meydana gelir. Diğer bir özellik, birçok biyo-dönüşüm enziminin ifadesi ve katalitik aktiviteleri için çeşitli hayvan türleri ve insanlar arasında ve kendi içlerinde belirgin farklılıkların olmasıdır. Metabolik farklılıklar ile ilgili herhangi bir bilgi, maddelerin insanlara yönelik potansiyel riskini karakterize etmede çok önemli bilgiler sağlayabilir.

R.7.12.1.4 Boşaltım

Maddeler farklı giriş yollarında emildikleri için çeşitli yol ve mekanizmalarla atılabilirler. Boşaltım süreçlerinin bağıl önemi, bileşiğin ve çeşitli metabolitlerinin fiziksel ve kimyasal özelliklerine bağlıdır.

²¹ Adenozin-tri-fosfat.

Pasif taşımanın (yayılm veya filtreleme) yanı sıra, bir maddeyi biyolojik bir zardan geçirmek için taşıyıcı aracılı mekanizmalar vardır. Belirli türdeki maddelerin (örn. sodyum, potasyum, magnezyum, organik asitler ve organik bazlar) taşınmasından sorumlu çeşitli pompalar olduğu iyi bilinmektedir.

İlgili bileşikler, aynı taşıma mekanizması için rekabet edebilir. Ek taşıma sistemleri, fagositoz ve pinositoz da önemli olabilir (örn. Alveollerden tanecikli maddenin alveolar fagositler tarafından uzaklaştırılmasında ve bazı büyük moleküllerin (Pritchard, 1981) vücuttan karaciğer ve dalaktaki (Klaassen, 1986) retikülo-endotelyal sistem tarafından uzaklaştırılmasında da önemli olabilir).

R.7.12.1.5 Biyoyararlanım, doygunluk karşısında doğrusal olmama ve Birikim

Toksisiteyi etkileyen en kritik faktör, gerçek hedef bölgedeki nihai toksik maddenin konsantrasyonudur (doku dozu). Bu bağlamda, biyoyararlanım, bir test maddesinin toksisite profilinin değerlendirilmesi için ilgili bir parametredir. Bir maddenin dozu ve konsantrasyonunu, toksisiteye yol açan olaylar dizisinin tamamındaki anahtar olayları kapsayan etki şekli ile ilişkilendirir.

Biyoyararlanım

Biyoyararlanım genellikle bir maddenin emilim bölgesinden genel (sistemik) dolaşımda kana geçişini tanımlar, dolayısıyla sistemik biyoyararlanımı ifade eder (Nordberg ve ark., 2004). Dikkate alınan maddenin en azından bir kısmının sistemik olarak biyoyararlanıma sahip olması gerçeğine genellikle sistemik maruz kalma denir.

Sistemik biyoyararlanım, emilen bir maddenin miktarına mutlaka eşdeğer değildir, çünkü birçok durumda bu miktarın bir kısmı sistemik dolaşıma ulaşmadan önce atılabilir veya metabolize edilebilir. Bu, örneğin, herhangi bir emilim gerçekleşmeden önce oral maruz kalma sonrasında bağırsakta metabolize olan maddeler için meydana gelebilir.

Tersine, bağırsaktan emilen maddeler, o organdan ilk geçişlerinde (ilk geçiş etkisi) karaciğer tarafından kısmen giderilebilir.

Doğrusallık karşısında doğrusal olmama ve Doygunluk

Vücudun farklı bölümleri arasındaki tüm aktarım hızları, mevcut miktarlar veya konsantrasyonlarla orantılı olduğunda (buna birinci dereceden bir süreç de denir), bu süreç doğrusal denir. Bu, yarı ömürler ile temizlenen ve dağıtılan bir maddenin miktarlarının sabit olduğunu ve konsantrasyonların dozlama hızı (maruz kalma) ile orantılı olduğunu gösterir. Bu tür doğrusal kinetikler, ilgili doz-toksisite ilişkilerini gösterir.

Biyodönüşüm süreçlerinde yer alan enzimlerin veya dağıtım veya eliminasyonda yer alan taşıyıcıların veya bağlayıcı proteinlerin (yani reseptörler) inhibe edilmesi veya maksimum aktivitelerine ulaşması nedeniyle kinetik bir süreç doyduktan sonra (örn. yüksek düzeyde dozlama/maruz kalma), süreç doğrusallığını kaybedebilir. Bu, konsantrasyona veya doza bağımlılığa veya bazı kinetik özelliklerin zamana bağımlı olmasına neden olabilir. Bazı durumlarda, bu, biyodönüşüm ürünlerinde veya metabolik kapasitede bir değişikliğe yol açabilir. Doğrusal olmayan kinetik için olası kaynakların, özellikle tekrarlı doz testlerinde sistematik olarak dikkate alınması tavsiye edilir.

Birikim (Kroes ve ark., 2004)

Biyolojik bir sistemdeki her şeyin biyolojik bir yarı ömrü vardır, yani bu, sistemde esas olarak boşaltım, bozunma veya metabolizma ile kaybedilene kadar o sistemde ne kadar kalacağına bir ölçüsüdür. Başka bir deyişle, bir maddenin birim zamanda kandan giderilen miktarı, klirensin (birim zamanda temizlenen kan hacmi) ve konsantrasyonun (birim hacim başına bileşiğin miktarı) ürünüdür. Birinci dereceden reaksiyonlar için klirens, bir maddeye ait bir özellik olan sabit bir değerdir. Bir organizmaya bir maddenin girişi, maddenin kayb olduğu hızdan daha büyükse, organizmanın o maddeyi biriktirdiği söylenir. Konsantrasyon, giderilen miktar madde giriş miktarına eşit olacak şekilde arttığında, sabit bir konsantrasyon, kararlı hal söz konusu olacaktır. Birikimin boyutu, vücut yükü ile kararlı hal koşulu arasındaki ilişkiyi yansıtır. Temizlenmedeki (klirens) tür farklılıkları, deney hayvanları ve insanlar arasındaki kararlı hal vücut yükü farkını belirleyecektir.

R.7.12.2 Uygulamalarda TK - bilgi türetme ve oluşturma

Genel olarak, bir maddenin toksikolojik profili için test edilmesi, en olası insan maruz kalma senaryosundan türetilen en uygun uygulama yolu ile çeşitli dozajlara veya konsantrasyonlara maruz kalan laboratuvar hayvanlarında gerçekleştirilir. Kazanılan bilgileri insanlara ilgisi açısından değerlendirirken, belirli bir test maddesine hassasiyetteki türler arası ve tür içi farklılıklar nedeniyle belirsizlikleri hesaba katmak için bir *değerlendirme faktörü* (varsayılan yaklaşım) uygulanan koruyucu yaklaşım kullanılır.

Örneğin insanların test türlerinden çok daha az hassas olduğu veya aslında test hayvanında görülen etkilerin hiçbir koşulda insanlarda ortaya çıkmayacağına bilindiği durumlarda, bu koruyuculuk uygunsuz olarak kabul edilebilir (ECETOC, 2006). Etkinin temel etki şekli (toksisitenin gösterimindeki kilit olaylar), varsayılan yaklaşımdan ayrılmayı gerektendirilir ve insan durumu için ilgisiz olduğu noktaya kadar çeşitli savunmalarla daha gerçekçi bir risk değerlendirmesini mümkün kılabilir.

Bir maddenin risk değerlendirmesi için SANCO (EC, 2007) tarafından kademeli bir yaklaşım önerilmiştir. Buna paralel olarak, bir maddenin farklı önem seviyeleri için TK değerlendirmesinde ne kadar çaba sarf edileceğine dair bir strateji türetilebilir. Fiziko-kimyasal ve diğer verilerden elde edilen maddenin olası aktivite profiline ve yapısal olarak ilgili maddelere ilişkin hususlar, minimum talep olarak dikkate alınmalıdır. Bu, feragat etme veya ileri testlerin tetiklenmesi konusundaki tartışmaya yardımcı olabilir ve bir maddenin etki şekline ilişkin bir ilk izlenim sağlayabilir.

Yapılabilecek ilave toksisite çalışmalarını yorumlamak ve yönlendirmek için, müteakip toksikokinetik verilerin hangi çalışmalara ihtiyaç duyulduğuna odaklanılması gerekir. Bu çabanın avantajı, sonuçların, etki şeklini adım adım açıklayarak bir maddenin aktivitesi hakkındaki bilginin geliştirilmesini sağlamasıdır. Bu kademede, değerlendirme faktörlerinin uygulanması, genel varsayılan değerlerden kimyasala özel ayarlama faktörlerine (CSAF) değişir.

R.7.12.2.1 Temel Veri Setini dikkate alarak TK bilgilerinin türetilmesi

≥1 tonluk miktarlarda imal veya ithal edilen maddeler için KKDİK standart bilgi gereklilikleri (bkz. ilgili yönetmelikte Ek 7), başlıca fiziko-kimyasal veriler ve cilt tahrişi/aşınma, göz tahrişi, cilt hassasiyeti, *in vitro* mutajenite, akut oral toksisite, omurgasızlarda kısa süreli sucul toksisite, alg büyüme inhibisyonu gibi verileri içerir. Bu nedenle, bu veriler maddelerin çoğu için mevcut olacaktır. Bu veriler, TK davranışının nitel değerlendirmelerini sağlayacaktır. Bununla birlikte, madde metabolik dönüşüme uğrarsa maddenin fiziko-kimyasal özellikleri değişecektir ve ana maddenin fiziko-kimyasal özellikleri, metabolitlerinin kimliği, dağılımı, tutulumu ve giderilmesi hakkında herhangi bir ipucu vermeyebilir. Bunlar dikkate alınması gereken önemli faktörlerdir.

Emilim

Emilim, bir maddenin biyolojik zarlar boyunca yayılma potansiyelinin bir fonksiyonudur. Moleküler ağırlığa ek olarak, bu potansiyel hakkında bilgi sağlayan en kullanışlı parametreler, oktanol/su dağılım katsayısı (log P) değeri ve suda çözünürlüktür. Log P değeri, maddenin su ve hidrofobik çözücü oktanol (lipid için bir vekil olarak kullanılır) içindeki bağıl çözünürlüğü hakkında bilgi sağlar ve bir lipofiliklik ölçüsüdür. 0'ın üzerindeki Log P değerleri, maddenin oktanolde sudan daha fazla çözünür olduğunu gösterir, yani lipofilik ve negatif değerler, maddenin suda oktanolden, yani hidrofilik durumdan daha fazla çözünür olduğunu gösterir. Genel olarak, -1 ile 4 arasındaki log P değerleri emilim için uygundur. Bununla birlikte, böyle bir log P değerine sahip bir madde, lipidlerde zayıf bir şekilde çözünür olabilir ve bu nedenle, suda çözünürlüğü çok düşük olduğunda kolayca emilmez. Bu nedenle, bir maddenin emilim potansiyelini değerlendirirken, hem bir maddenin suda çözünürlüğünü hem de log P değerini dikkate almak önemlidir.

Oral / sindirim sistemi emilimi

Bir maddenin sindirim yolunda emilim potansiyeli değerlendirilirken, maddelerin sindirim yolu florası ile metabolizmanın bir sonucu olarak sindirim yolu sıvılarında, sindirim yoluna salınan enzimler veya hidroliz yoluyla kimyasal değişikliklere uğrayabileceği unutulmamalıdır. Bu değişiklikler, maddenin fiziko-kimyasal özelliklerini değiştirecektir ve dolayısıyla ana maddenin fiziko-kimyasal özelliklerine dayalı tahminler artık geçerli olmayabilir (*fizyolojik faktörlerin* ayrıntılı bir listesi, mide ve bağırsak pH düzeyi hakkında veriler, bağırsakta geçiş süresi ile ilgili veriler için bkz. [Ek R.7.12-1](#)).

İyonik maddelerin (yani asitler ve bazlar) emilimini etkileyebilecek bir husus, sindirim sisteminin değişken pH düzeyidir. İyonlaşmış maddelerin biyolojik zarlar boyunca kolaylıkla yayılmadığı düşünülmektedir. Bu nedenle, bir asit veya bazın emilim potansiyeli değerlendirilirken, pKa (maddenin %50'sinin iyonlaşmış ve %50'sinin iyonlaşmamış formda olduğu pH) hakkında bilgi avantajlıdır. Asitlerin emilimi, pKa altındaki pH düzeylerinde tercih edilirken, bazların emilimi, pKa üzerindeki pH düzeylerinde tercih edilir.

Sindirim yolunda maddelerin emilebildiği diğer mekanizmalar arasında küçük suda çözünür moleküllerin (moleküler ağırlık yaklaşık 200'e kadar) sulu gözeneklerden geçişi veya bu moleküllerin zarlar boyunca suyun yığın geçişiyle taşınması bulunur (Renwick, 1994) . Yüksek düzeyde lipofilik maddelerin (log P 4 veya üzeri) emilimi, bu maddelerin sindirim sıvıları içinde çözünmemesi ve dolayısıyla mukozal yüzey ile temas etmemesi nedeniyle sınırlanabilir. Bununla birlikte, bu tür maddelerin emilimi, safra tuzları ile misel çözünmeye girerlerse artacaktır (Aungst ve Shen, 1986). Misel halinde emilen maddeler (yüzey aktif madde moleküllerinin agregasyonu, yüzey gerilimini düşürür), lenfatik sistem yoluyla karaciğeri atlayarak dolaşıma girer. Tanecikler ve büyük moleküller (1000 seviyesinde moleküler ağırlıklara sahip olanlar) normalde biyolojik zarları geçemeyecek kadar büyük kabul edilse de, bu maddelerin küçük miktarları pinositoz veya persorpsiyonla epitel hücrelerine taşınabilir (villusların uçları döküldüğünde kalan zarlardaki boşluklardan geçiş) (Aungst ve Shen, 1986). Yüzey aktif maddelerin veya tahriş edici maddelerin emilimi, hücre zarlarına verilen hasar nedeniyle artabilir.

Emilim, sindirim yolu boyunca farklı bölgelerde ve farklı mekanizmalarla gerçekleşebilir. *Ağızda* emilim minimumdur ve varsa pasif yayılım ile gerçekleşir. Bu nedenle maddeler doğrudan sistemik dolaşıma girer, ancak bazı enzimatik bozunmalar meydana gelebilir. *Ağızda* olduğu gibi, *midede* de emilim minimumdur ve yalnızca pasif yayılımla gerçekleşir - asidik ortam zayıf asitlerin alımına yardımcı olur. Alım öncesinde hidroliz ve çok nadiren metabolizma (endojen enzimler tarafından) potansiyeli vardır. Bu noktada emildikten sonra, maddeler sistemik dolaşıma girmeden önce karaciğere gidecektir - ilk geçiş metabolizması daha sonra ana bileşiğin sistemik biyoyararlanımını sınırlayabilir. *İnce bağırsağın* çok geniş bir yüzey alanı vardır ve bu bölümden geçiş süresi en uzundur, bu da burayı sindirim yolundaki baskın emilim bölgesi yapar. Çoğu madde pasif yayılımla emilecektir. Bununla birlikte, lipofilik bileşikler miseller oluşturabilir ve lenfatik sistem içerisine emilebilir ve daha büyük moleküller/tanecikler pinositoz ile alınabilir. Emilimden önce metabolizma, bağırsak mikroflorası veya sindirim yolu mukozasındaki enzimler tarafından meydana gelebilir. Bu noktada kana giren maddeler sistemik dolaşıma girmeden önce karaciğerden geçtiği için, hepatik ilk geçiş metabolizması sistemik dolaşıma giren ana bileşik miktarını sınırlayabilir. Kalın bağırsakta emilim esas olarak pasif yayılımla gerçekleşir. Ancak elektrolitler için aktif taşıma mekanizmaları da mevcuttur. İnce bağırsakla karşılaştırıldığında kalın bağırsakta emilim hızı ve miktarı düşüktür. Kalın bağırsaktan gelen kan akışının çoğu önce karaciğerden geçer.

Tablo R.7.12—1 Oral / sindirim yolu emilimi ile ilgili verilerin yorumlanması

Veri kaynağı	Ne anlatıyor
Yapı	Molekülün yapısı içinde iyonlaşabilir grupları belirlemek mümkün olabilir. Oksijen, sülfür veya nitrojen atomları içeren gruplar, örn. tiyol (SH), sülfonat (SO ₃ H), hidroksil (OH), karboksil (COOH) veya amin (NH ₂) gruplarının tümü potansiyel olarak iyonlaşabilir.
Molekül Ağırlığı	Genel olarak molekül ne kadar küçükse o kadar kolay alınabilir. 500'ün altındaki molekül ağırlıkları emilim için uygundur; 1000'in üzerindeki molekül ağırlıkları emilimi desteklemez.

Veri kaynağı	Ne anlatıyor
Tanecik boyutu	Genellikle katıların emilmeden önce çözünmesi gerekir. Nanometre boyut aralığındaki taneciklerin pinositoz ile alınması mümkün olabilir. Kuru (örneğin beslenmede) veya bir süspansiyon içinde uygulanan, çapları birkaç yüz mikrometre olan çok büyük taneciklerin emilimi, taneciğin çözünmesi için geçen süre nedeniyle azalabilir. Bu özellikle suda çözünürlüğü düşük maddeler için geçerli olacaktır.
Suda Çözünürlük	Suda çözünen maddeler, sindirim yolu sıvılarında kolaylıkla çözünecektir. Çok hidrofilik maddelerin pasif yayılım ile emilimi, maddenin sindirim sıvısının dışına dağılma hızı ile sınırlandırılabilir. Bununla birlikte, molekül ağırlığı düşükse (200'den az), madde sulu gözeneklerden geçebilir veya suyun yığın geçişiyle epitel bariyerinden taşınabilir.
Log P	Orta düzeyde log P değerleri (-1 ile 4 arasında) pasif yayılım ile emilim için uygundur. Herhangi bir lipofilik bileşik misel çözündürme ile alınabilir, ancak bu mekanizma, yüksek düzeyde lipofilik bileşikler (log P > 4), özellikle başka şekilde emilimi zayıf olacak suda az çözünenler (1 mg/l veya daha az) için özellikle önemli olabilir.
Dozlama Taşıyıcısı	Madde bir taşıyıcı kullanılarak dozlanmışsa, taşıyıcının suda çözünürlüğü ve maddenin taşıyıcı/su dağılım katsayısı alım hızını etkileyebilir. Sulu ortamda uygulanan bileşikler, muhtemelen yağlar içerisinde uygulananlardan daha hızlı emilir ve emülsiyon oluşturulabilen ve sindirilebilen yağlar (örn. mısır yağı veya yerfıstığı yağı) içinde uygulanan bileşiklerin, sindirilemeyen mineral yağda (sıvı vazelin) (d'Souza, 1990) veya toprakta (çocuklar için önemli bir taşıyıcıdır) uygulananlardan daha fazla emilebilmesi muhtemeldir.
Oral toksisite verileri	Sistemik toksisite belirtileri varsa, emilim gerçekleşmiştir ²² . Ayrıca renkli idrar ve/veya iç organlar, renkli bir maddenin emildiğine dair kanıt sağlayabilir. Bu bilgi, emilen madde miktarı hakkında hiçbir gösterge vermeyecektir. Ayrıca kambur duruş gibi bazı klinik belirtiler, tahrişin neden olduğu rahatsızlıktan kaynaklanıyor olabilir veya midede büyük hacimde test maddesinin bulunması ve yem alımının azalması, bir test maddesinin tadının kötü olmasına dayalı olabilir. Bu nedenle, sistemik emilimin kanıtı olarak belirtilen etkilerin, gerçekten emilen test maddesinden kaynaklandığı ve temas etkilerinin olduğu yerdeki lokal etkilere bağlı olmadığı açık olmalıdır.
Hidroliz Testi	Hidroliz verileri her zaman mevcut değildir. KKDİK Yönetmeliği (Ek 8) kapsamında bildirilen > 10 ton maddeler için yapılan hidroliz testi (C.7 ²³ ; OECD Test Rehberi 111), 50°C'de ve 4.0, 7.0 ve 9.0 pH değerlerinde su içerisindeki maddenin yarı ömrü hakkında bilgi sağlar. Test, düşük konsantrasyon, 0.01 M veya doymuş bir sulu çözeltinin yarısı kadar konsantrasyon kullanılarak gerçekleştirilir (hangisi daha düşükse).

²² Sistemik etkilerin lokal etkilere ikincil olarak ortaya çıkmaması sağlanmalıdır!

²³ bkz. Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik.

Veri kaynağı	Ne anlatıyor
	Bu testin gerçekleştirildiği sıcaklık sindirim yolundakinden çok daha yüksek olduğundan, bu test sindirim yolundaki maddenin gerçek hidroliz yarı ömrünün bir tahminini sağlamayacaktır. Bununla birlikte, ana bileşiğin sindirim yolunda sadece sınırlı bir süre mevcut olabileceğine dair bir belirti verebilir. Bu nedenle, ana bileşiğin özelliklerine dayanan toksikokinetik tahminler, sınırlı bir ilgiye sahip olabilir.

Solunum yoluyla emilim - Soluma

Solunan maddeler için, maddenin solunum yolu yüzeyinde birikim süreçleri ve gerçek emilim farklılaştırılmalıdır. Her iki süreç de bir maddenin fiziko-kimyasal özelliklerinden etkilenir.

Solunabilen maddeler arasında gazlar, buharlar, sıvı aerosoller (çözelti içindeki sıvı maddeler ve katı maddeler) ve ince halde bölünmüş tozlar bulunur.

Maddeler doğrudan solunum yolundan emilebilir veya klirens mekanizmalarının etkisiyle solunum yolunun dışına taşınabilir ve yutulabilir. Bu, sindirim sisteminden emilimin, solunan maddelerin toplam sistemik yüküne katkıda bulunacağı anlamına gelir.

Kanda kolaylıkla çözünebilmesi için, bir gaz veya buharın suda çözünür olması gerekir ve suda çözünürlüğün artması, nefes başına emilen miktarı artıracaktır. Bununla birlikte, gaz veya buhar, alveolar ve kılcal membranları geçmek için yeterince lipofilik olmalıdır. Bu nedenle, orta düzeyde bir log P değeri (-1 ile 4 arasında) emilim için uygun olacaktır. Buharlar için, kolay çözünür maddelerin birikim modeli lipofilik maddelerden farklıdır; hidrofilik madde üst solunum yolundaki havadan etkin bir şekilde uzaklaştırılırken, lipofilik maddenin derin akciğere ulaşır ve böylece büyük gaz değişim bölgesi yoluyla emilim gerçekleşebilir. Çok hidrofilik gazların veya buharların sistemik alım hızı, solunum yolunu kaplayan sulu sıvılardan (mukus) dışarıya ve kana dağılım hızıyla sınırlanabilir. Bu tür maddeler, mukus ile birlikte birikim bölgesinin dışına taşınabilir ve yutulabilir veya sulu zar gözenekleri yoluyla solunum epitelinde geçebilir. Yüksek derecede reaktif gazlar veya buharlar, temas yerinde reaksiyona girebilir ve böylece emilim için mevcut miktarı azaltabilir. Bileşiğin fiziko-kimyasal özelliklerinin yanı sıra, fiziksel aktivite (egzersiz, ağır iş gibi) emilim oranı üzerinde büyük bir etkiye sahiptir ve ayrıca ele alınmalıdır (Csanady ve Filser, 2001).

Tozlar için kesin birikim modelleri yalnızca tozun parçacık boyutuna değil, aynı zamanda parçacıkların higroskopikliğine, elektrostatik özelliklerine ve şekline ve bireyin solunum dinamiğine de bağlı olacaktır. Kaba bir rehber olarak, aerodinamik çapları 100 µm'nin altında olan parçacıkların solunma potansiyeli vardır. Aerodinamik çapları 50 µm'nin altında olan partiküller göğüs (torasik) bölgesine ve 15 µm altında olanlar solunum yolunun alveolar bölgesine ulaşabilir. Bu değerler, solunum yolu yapıları daha küçük boyutlara sahip deney hayvanları için daha düşüktür. 1-5 µm'nin üzerinde aerodinamik çaplara sahip tanecikler, nazofaringeal bölgede en büyük çökme olasılığına sahipken, 1-5 µm'nin altındaki aerodinamik çaplara sahip taneciklerin trakeo-bronşiyal veya pulmoner bölgelere yerleşmesi daha olasıdır (Velasquez, 2006).

Bu nedenle, solunum yolundaki taneciklerin nicel birikim modeli değişkenlik gösterir.

Bununla birlikte, genel birikim modelleri türetilebilir (Snipes, 1989). Solunum sistemindeki tanecik boyutu birikim modellerini tahmin etmek için birkaç model mevcuttur (ABD EPA, 1994).

Genel olarak sıvılar, çözelti içindeki katılar ve suda çözünen tozlar, solunum yolunu kaplayan mukus içine kolaylıkla yayılır/çözülür. Lipofilik maddeler ($\log P > 0$) daha sonra doğrudan solunum yolu epitelinde emilme potansiyeline sahip olacaktır. Daha yüksek $\log P$ değerlerine sahip maddelerin akciğerlerde daha uzun bir yarı ömre sahip olabileceğini gösteren bazı kanıtlar vardır, ancak bu kapsamlı bir şekilde çalışılmamıştır (Cuddihy ve Yeh, 1988). Çok hidrofilik maddeler sulu gözeneklerden emilebilir (molekül ağırlıkları yaklaşık 200'ün altında olan maddeler için) veya mukusta tutularak solunum yolunun dışına taşınabilir. Suda çözünürlüğü düşük tozlar için, taneciklerin mukus içinde çözülme hızı, doğrudan emilebilecek miktarı sınırlayacaktır. Nazofaringeal bölgede biriken suda çözünürlüğü düşük tozlar vücuttan dışarı öksürerek veya hapşırarak atılabilir veya yutulabilir (Schlesinger, 1995). Trakeo-bronşiyal bölgede biriken bu tür tozlar, mukosilyer mekanizma ile esas olarak akciğerlerden temizlenir ve yutulur. Bununla birlikte, küçük bir miktar fagositozla alınarak lenfatik sistem yoluyla kana taşınabilir. Alveolar bölgede biriken suda az çözünen tozlar, esas olarak alveolar makrofajlar tarafından yutulacaktır. Makrofajlar daha sonra tanecikleri siliyer hava yollarına yerleştirecek veya tanecikleri pulmoner interstisyum ve lenfoid dokulara taşıyacaktır.

Tablo R.7.12—2 Solunum yoluyla emilim ile ilgili verilerin yorumlanması

Veri kaynağı	Ne anlatıyor
Buhar Basıncı	Bir maddenin buhar olarak solunma açısından mevcut olup olmadığını gösterir. Genel bir rehber olarak, oldukça uçucu maddeler, buhar basıncı 25 KPa'dan yüksek (veya kaynama noktası 50°C'nin altında) olanlardır. Düşük uçuculuğa sahip maddeler, 0.5 KPa'dan daha düşük bir buhar basıncına (veya 150°C'nin üzerinde kaynama noktasına) sahiptir.
Tanecik boyutu	İçe çekilebilir/solunabilir taneciklerin varlığını gösterir. Aerodinamik çapları 100 μm 'nin altında olan taneciklerin insanlar tarafından solunma potansiyeli vardır. Aerodinamik çapları 50 μm 'nin altında olan partiküller göğüs (torasik) bölgesine ve 15 μm altında olanlar solunum yolunun alveolar bölgesine ulaşabilir. Bu değerler, solunum yolu yapıları daha küçük boyutlara sahip deney hayvanları için daha düşüktür. Bu nedenle, solunum yolundaki taneciklerin nicel birikim modeli, solunan aerosolün tanecik boyutu dağılımına göre değişir ve ayrıca taneciklerin fiziksel ve fiziko-kimyasal özelliklerine (örn. şekil, elektrostatik yük) dayalı olabilir. Bununla birlikte, genel birikim modelleri türetilebilir (Snipes, 1989; ABD EPA, 1994)
Log P	Orta düzeyde $\log P$ değerleri (-1 ile 4 arasında), pasif yayılım ile solunum yolu epitelinde doğrudan emilim için uygundur. Herhangi bir lipofilik bileşik misel çözündürme ile alınabilir, ancak bu mekanizma, yüksek düzeyde lipofilik bileşikler ($\log P > 4$), özellikle başka şekilde emilimi zayıf olacak suda az çözünenler (1 mg/l veya daha az) için özellikle önemli olabilir.

Suda Çözünürlük	Birikim: Çok hidrofilik maddelerin buharları mukus içinde tutulabilir. Küçük tanecik gibi, düşük suda çözünürlük alt solunum sistemine nüfuzu artırır. Birikmiş malzemenin emilimi için sindirim yolu emilimine benzer kriterler geçerlidir
Solunma toksisitesi verileri	Sistemik toksisite belirtileri varsa, emilim gerçekleşmiştir. Bu nicel bir emilim ölçüsü değildir.
Oral toksisite verileri	Bir oral toksisite çalışmasında sistemik toksisite belirtileri mevcutsa veya yutmayı takiben emilim potansiyelini gösteren başka veriler varsa, madde muhtemelen solunduğunda da emilecektir.
Hidroliz Testi	Hidroliz verileri her zaman mevcut değildir. KKDİK Yönetmeliği (Ek 8) kapsamında bildirilen > 10 ton maddeler için yapılan hidroliz testi (C.7 ²⁴ , OECD Test Rehberi 111), 50°C'de ve 4.0, 7.0 ve 9.0 pH değerlerinde su içerisindeki maddenin yarı ömrü hakkında bilgi sağlar. Test, düşük konsantrasyon, 0.01 M veya doymuş bir sulu çözeltinin yarısı kadar konsantrasyon kullanılarak gerçekleştirilir (hangisi daha düşükse). Bu testin gerçekleştirildiği sıcaklık solunum yolundakinden çok daha yüksek olduğundan, bu test solunum yolundaki maddenin gerçek hidroliz yarı ömrünün bir tahminini sağlamayacaktır. Bununla birlikte, ana bileşiğin solunum yolunda sadece sınırlı bir süre mevcut olabileceğine dair bir belirti verebilir. Bu nedenle, ana bileşiğin özelliklerine dayanan toksikokinetik tahminler, sınırlı bir ilgiye sahip olabilir.

Deri yoluyla emilim

Deri dinamik, canlı, çok katmanlı bir biyo-zar olup, bu nedenle geçirgenliği hidrasyon, sıcaklık ve kapaticılıktaki değişikliklerin bir sonucu olarak değişebilir. Deriyi geçmek için, bir bileşiğin önce stratum korneum (korun tabakası-kompleks bir lipid zarı oluşturan cansız korneosit tabakası) girmesi ve ardından canlı *epidermise*, *dermise* ve *vasküler ağa* ulaşması gerekir. Stratum korneum, hidrofilik bileşiklere karşı en büyük bariyer fonksiyonunu sağlarken, canlı epidermis, yüksek düzeyde lipofilik bileşiklerin nüfuzuna karşı en dirençlidir (Flynn, 1985).

Deri yoluyla emilim, epidermiste (stratum korneum hariç) ve dermiste bulunan topikal olarak uygulanmış test maddesinin miktarını temsil eder ve bu nedenle bu miktar sistemik yararlanımlı olarak alınır. Deri yoluyla emilim birçok faktörden etkilenir, bunlara örnekler maddenin fiziko-kimyasal özellikleri, taşıyıcısı ve konsantrasyonu ve maruz kalma modeli (örneğin uygulama bölgesinin kapatılması) ve ayrıca vücuttaki cilt bölgesidir (inceleme için bkz. ECETOC, 1993; Howes ve ark., 1996; Schaefer ve Redelmaier, 1996). Deri boyunca (perkütan) nüfuz terimi, *in vitro* deneyleri ifade eder ve reseptör sıvısında bulunan topikal olarak uygulanmış test maddesinin miktarını temsil eder - bu miktar sistemik yararlanımlı olarak alınır.

Cilde potansiyel olarak alınabilen maddeler arasında gazlar ve buharlar, sıvılar ve tanecikler bulunur.

²⁴ bkz. Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik.

Bir risk değerlendirme çerçevesi dahilinde deri emiliminin tahmini için kademeli bir yaklaşım önerilmiştir (EC, 2007): Başlangıçta, temel fiziko-kimyasal bilgiler (yani moleküler kütle ve lipofiliklik (log P)) dikkate alınmalıdır. Bunu takiben, moleküler kütle 500'ün üzerinde olmadığı ve log P değeri [-1, 4] aralığının dışında olmadığı sürece (bu durumda %10²⁵ cilt emilim değeri seçilir), genellikle %100 cilt emilimi varsayılan değeri kullanılır (de Heer ve ark., 1999). Bu kademeli yaklaşımı özetleyen bir akış şeması [Ek R.7.12-4](#)'te sunulmuştur.

Tablo R.7.12—3 Deri yoluyla emilim ile ilgili verilerin yorumlanması

Veri kaynağı	Ne anlatıyor
Fiziksel durum	Sıvılar ve çözeltideki maddeler kuru taneciklere göre daha kolay alınır. Kuru taneciklerin, alımın başlayabilmesi için cildin yüzey neminde çözünmesi gerekecektir. Uçucu sıvıların deri üzerinden emilmesi, sıvının cilt yüzeyinden buharlaşma hızı ile sınırlı olabilir (Pryde ve Payne, 1999).
Molekül Ağırlığı	100'ün altında oluşu deri yoluyla alımı destekler. 500'ün üzerinde molekül çok büyük olabilir.
Yapı	Deri bileşenlerine bağlanmanın bir sonucu olarak, aşağıdaki gruplara sahip maddelerin alımı yavaşlatılabilir: belirli metal iyonları, özellikle Ag ⁺ , Cd ²⁺ , Be ²⁺ ve Hg ²⁺ akrilatlar, kuaterner amonyum iyonları, heterosiklik amonyum iyonları, sülfonyum tuzları. Aynı nedenle, aşağıdaki kimyasal sınıflara ait maddelerin deri yoluyla alımında hafif bir azalma da beklenebilir: Kuininler, dialkil sülfidler, asit klorürler, halotriazinler, dinitro veya trinitro benzenler.
Suda Çözünürlük	Madde, stratum korneumdan epidermise dağılımı için suda yeterince çözünür olmalıdır. Bu nedenle, suda çözünürlük 1 mg/l'nin altında ise, deri yoluyla alım muhtemelen düşük olacaktır. 1-100 mg/l arasında emilimin düşük ila orta ve 100-10000 mg/l arasında orta ila yüksek olması beklenmektedir. Bununla birlikte, suda çözünürlük 10000 mg/l'nin üzerindeyse ve log P değeri 0'ın altındaysa, madde stratum korneumun lipid açısından zengin ortamını geçemeyecek kadar hidrofilik olabilir. Bu maddeler için dermal alım düşük olacaktır.

25 %10'luk alt sınır seçilmiştir, çünkü literatürde bu uç noktalarda moleküler ağırlık ve/veya log P değerlerine sahip maddelerin deriyi sınırlı bir ölçüde geçebileceğine dair kanıt vardır. Alternatif bir deri emilimi yüzde değerinin kullanımının uygun olduğunu gösteren veriler (örn. uygulamada maruz kalma durumlarında suda çözünürlük, iyonojenik durum, 'moleküler hacim', oral emilim ve deri alanı dozu ile ilgili veriler) mevcutsa, bu alternatif değer kullanılabilir. Alternatif değerlerin kullanımı için bilimsel gerekçeler sağlanmalıdır.

Veri kaynağı	Ne anlatıyor
Log P	<p>Log P değeri <0 olan maddeler için, zayıf lipofiliklik stratum korneuma nüfuzu ve dolayısıyla deri emilimini sınırlandıracaktır. <-1 değerleri, bir maddenin stratum korneumu geçmek için yeterince lipofilik olma ihtimalinin olmadığını, bu nedenle deri emiliminin muhtemelen düşük olduğunu göstermektedir.</p> <p>1 ile 4 arasındaki Log P değerleri, özellikle suda çözünürlük yüksekse, deri emilimini destekler (2 ile 3 arasındaki değerler optimumdur).</p> <p>4'ün üzerinde, nüfuzun hızı stratum korneum ve epidermis arasındaki aktarım hızı ile sınırlandırılabilir, ancak stratum korneuma alım yüksek olacaktır.</p> <p>6'nın üzerinde, stratum korneum ile epidermis arasındaki aktarım hızı yavaş olacak ve cilt boyunca emilimi sınırlandıracaktır. Stratum korneuma alım yavaş olabilir.</p>
Buhar Basıncı	<p>Gazların ve buharların havadan stratum korneuma dağılım hızı, buharlaşmanın meydana geldiği hız ile dengelenecektir, bu nedenle bir madde stratum korneuma kolayca dağılabilmesine rağmen, daha fazla nüfuz etmek için çok uçucu olabilir. Bu, 25°C'de 100-10000 Pa (yaklaşık 0.76-76 mm Hg) üzerinde buhar basıncına sahip maddeler için geçerli olabilir, ancak alımın kapsamı aynı zamanda kapatılma derecesine, ortam hava akımlarına ve deri üzerinden aktarılabilme hızına da dayalı olacaktır.</p> <p>100 Pa'nın altında buhar basıncına sahip maddelerin buharları muhtemelen iyi emilir ve deri yoluyla emilen miktar, soluma yoluyla emilecek miktarın %10'undan fazla olabilir.</p>
Yüzey Gerilimi	<p>Sulu bir çözeltinin yüzey gerilimi 10 mN/m'den azsa, madde bir yüzey aktif maddedir ve bu, potansiyel deri alımını artıracaktır. Yüzey aktif maddeler ayrıca, cildi tahriş edici etkilerin yokluğunda bile diğer bileşiklerin emilimini önemli ölçüde artırabilir.</p>
Cilt tahrişi / Aşındırıcılık	<p>Madde cildi tahriş edici veya aşındırıcı ise, cilt yüzeyindeki hasar nüfuzu artırabilir.</p>
Deri toksisite verileri	<p>Sistemik toksisite belirtileri, emilimin gerçekleştiğini gösterir. Bununla birlikte, kendi kendini temizlemeyi önlemek için adımlar atılmadıysa, madde yutulmuş olabilir ve bu nedenle sistemik toksisite belirtileri deri emiliminden ziyade oral emilimden kaynaklanıyor olabilir.</p>
Cilt hassaslaştırıcılığı verileri	<p>Eğer madde bir cilt hassaslaştırıcı olarak tanımlanmışsa, bu durumda, zorlama uygulamasının sağlam cilt için olması koşuluyla, uygulanan dozun sadece küçük bir kısmı olsa da bir miktar alım gerçekleşmiş olmalıdır.</p>
Eser elementler	<p>Madde katyonik bir eser element ise, emilim muhtemelen çok düşük olacaktır (< %1). Analitik sorunları ve doğru olmayan geri kazanımları önlemek için kararlı veya radyoaktif izotoplar kullanılmalı ve temel seviyeler belirlenmelidir.</p>

Pek çok faktör ([Tablo R.7.12—3](#)) maddenin kendisiyle bağlantılı olsa da, nihai karışımın veya imalat veya kullanım koşullarının deri emilimi hızını ve kapsamını etkileyebileceği akılda tutulmalıdır.

Bu faktörler, deri emiliminin tahmin edilme aşaması dahil olmak üzere risk değerlendirme sürecinde de dikkate alınmalıdır²⁶. Ayrıca açıklanan yöntemler, akut toksisitenin belirlenmesinde önemli bir rol oynayabilen (*in vitro* çalışmalar haricinde) emilimin hızına değil, emilimin boyutuna odaklanmıştır.

Dağılım

Bir maddenin kandaki veya plazmadaki konsantrasyonu (kan seviyesi), doza, emilim, dağılım ve eliminasyon hızlarına ve bileşik için dokuların afinitesine bağlıdır. Doku afinitesi genellikle vücutta bulunan bileşik miktarı ile ölçülen plazma veya kan konsantrasyonu arasında bir orantı faktörü olan, dağılım hacmi olarak bilinen bir parametre kullanılarak açıklanır. Dağılım hacmi ne kadar büyükse, vücuttaki belirli bir bileşik miktarı için kan seviyesi o kadar düşük olacaktır. Özellikle kullanışlı olan bir hacim terimi, kararlı haldeki (V_{dss}) dağılım hacmidir. Kararlı halde, tüm dağıtım olguları tamamlanır, vücudun çeşitli bölümleri dengede olur ve eliminasyon hızı emilim hızıyla tam olarak telafi edilir. Kararlı hal olmayan durumlarda, en basit tek ortamlı model durumu haricinde, dağılım hacmi zamanla değişir. Teoride, kararlı hale yalnızca sabit bir sıfırıncı dereceden girdi hızı ve kararlı birinci dereceden dağılım ve eliminasyon hızları durumunda fiziksel olarak ulaşılabilir. Bununla birlikte, birçok gerçek durum, kararlı hale makul ölçüde yakındır ve kararlı halde mantık yürütme, kinetikte yararlı bir yöntemdir.

Suda çözünürlüğü yüksek moleküllerin dağılım hızı, hücre zarlarını geçiş hızıyla sınırlandırılabilir ve bu tür maddelerin merkezi sinir sistemine (MSS) veya testislere erişimi muhtemelen kan-beyin ve kan-testis bariyerleri tarafından kısıtlanabilir (Rozman ve Klaassen, 1996). Plasentanın hangi bariyer özelliklerine sahip olabileceği net değildir. Bununla birlikte, plasenta boyunca (transplasental) aktarımda tür farklılıkları, farklı plasenta yapısı ve ayrıca farklı türlerdeki plasenta ve plasenta taşıyıcılarının metabolik kapasitesinin farklı olması nedeniyle ortaya çıkabilir.

Protein bağlanması dağılım için mevcut olan bir maddenin miktarını sınırlayabilse de, mevcut verilerden hangi maddelerin proteinlere bağlanacağını ve ne kadar istekli şekilde bağlanacağını belirlemek genellikle mümkün olmayacaktır. Ayrıca, bir madde kapsamlı bir ilk geçiş metabolizmasına maruz kalırsa, ana maddenin fiziko-kimyasal özelliklerine dayalı olarak yapılan tahminler uygulanamayabilir.

²⁶ Deri emiliminin belirlenmesinde dozlama taşıyıcısı büyük önem taşıyor gibi görünmektedir!

Tablo R.7.12—4 Dağılımla ilgili verilerin yorumlanması

Veri kaynağı	Ne anlatıyor
Molekül Ağırlığı	Genel olarak, molekül ne kadar küçükse dağılım o kadar geniş olur.
Suda Çözünürlük	Küçük suda çözünür moleküller ve iyonlar, sulu kanallar ve gözenekler yoluyla yayılır. Çok hidrofilik moleküllerin zarlar boyunca yayılma hızı, dağılımlarını sınırlayabilir.
Log P	Molekül lipofilik ise ($\log P > 0$), hücrelere dağılma olasılığı yüksektir ve hücre içi konsantrasyon, özellikle yağlı dokularda hücre dışı konsantrasyondan daha yüksek olabilir.
Hedef Organlar	Ana bileşik toksikolojik olarak aktif tür ise, bu maddenin hedef dokularından dağılımı hakkında bazı sonuçlar çıkarmak mümkün olabilir. Madde bir boya ise, iç organların renklenmesi dağılımın kanıtı olabilir. Bu, belirli bir bölgeye dağılan madde miktarı hakkında herhangi bir bilgi sağlamayacaktır. Kanda bulunan her şeyin kemik iliğine erişebileceği unutulmamalıdır.
Toksosite belirtileri	MSS etkilerinin açık belirtileri, maddenin (ve/veya metabolitlerinin) merkezi sinir sistemine dağıldığını gösterir. Ancak, tüm davranış değişiklikleri maddenin merkezi sinir sistemine ulaştığını göstermez. Davranış değişikliği, maddenin başka bir etkisinin neden olduğu rahatsızlıktan kaynaklanıyor olabilir.

Birikim potansiyeli

Bir maddenin vücutta birikme veya tutulma potansiyelini göz önünde bulundurmak önemlidir, çünkü bunlar ardışık maruz kalmalarla kademeli olarak artacağından vücut yükü uzun süre korunabilir.

Dozaj aralığı tüm vücut yarı ömrünün 4 katından daha kısa ise, lipofilik maddeler vücutta birikme potansiyeline sahiptir. Bir maddenin lipofilikliği ile biyolojik yarı ömrü arasında doğrudan bir ilişki olmamasına rağmen, yüksek log P değerlerine sahip maddeler, büyük dağılım hacimleri yüksek bir klirens ile dengelenmedikçe daha uzun yarı ömürlere sahip olma eğilimindedir. Bu temelde, yüksek düzeyde lipofilik maddelerin ($\log P > 4$) bu maddeye sık sık maruz kalan (örn. iş yerinde günlük olarak) kişilerde birikme potansiyeli vardır. Maruz kalma durduğunda, vücut içindeki konsantrasyon, maddenin yarı ömrü tarafından belirlenen bir hızda azalacaktır. Vücutta birikebilen diğer maddeler arasında akciğerlerin alveolar bölgesinde biriken zayıf çözünür tanecikler, endojen proteinlere geri dönülmez şekilde bağlanan maddeler ve kemiğin matriksi ile etkileşime giren bazı metaller ve iyonlar bulunur (Rozman ve Klaassen, 1996).

Tablo R.7.12—5 Birikimle ilgili verilerin yorumlanması

Bölge	Önem arz eden maddelerin özellikleri
Akciğer	1 µm veya daha düşük aerodinamik çaplara sahip suda ve lipide az çözünür tanecikler (yani log P değerleri 0 civarında ve suda çözünürlük yaklaşık 1 mg/l veya daha az) akciğerin alveolar bölgesinde birikim potansiyeline sahiptir. Burada taneciklerin alveolar makrofajlar tarafından fagositoza uğraması muhtemeldir. Makrofajlar daha sonra tanecikleri siliyer hava yollarına yerleştirecek veya tanecikleri pulmoner interstisyum ve lenfoid dokulara taşıyacaktır. Tanecikler ayrıca doğrudan pulmoner interstisyuma göç edebilir ve bu, taneciğin alveolar makrofajlar için toksik olduğu veya alveolar makrofajların fagositik yeteneklerini bastırmak için yeterli miktarlarda bulunduğu durumlarda büyük olasılıkla meydana gelir. Pulmoner interstisyum içinde klirens sadece çözünmeye bağlıdır, bu da uzun süreli tutulum olasılığına yol açar (Snipes, 1995).
Yağ dokusu	Lipofilik maddeler yağ dokusunda yoğunlaşma eğilimindedir ve maruz kalma koşullarına bağlı olarak birikebilir. Maruz kalmalar arasındaki aralık, maddenin tüm vücut yarı ömrünün 4 katından daha az ise, o zaman maddenin birikim potansiyeli vardır. Genellikle yüksek log P değerlerine sahip maddeler uzun biyolojik yarı ömürlere sahip olur. Bu temelde, log P değeri yaklaşık 4 veya daha yüksek olan bir maddeye günlük maruz kalma, bu maddenin vücutta birikmesine neden olabilir. Log P değeri 3 veya daha düşük olan maddelerin, işyerinde normalde karşılaşılan tekrarlı aralıklı maruz kalma modelleriyle birikme olasılığı düşüktür, ancak maruz kalmalar sürekli ise birikebilir. Maddeye maruz kalma durduğunda, madde, maddenin yarı ömrüne bağlı bir hızda kademeli olarak giderilecektir. Yağ depoları normalden daha hızlı harekete geçirilirse, örneğin bir birey veya hayvan stres altında olduğunda veya emzirme sürecinde büyük miktarlarda ana bileşiğin kana salınma potansiyeli vardır.
Kemik	Bazı metaller (örn. kurşun) ve florür gibi küçük iyonlar kemik matrisindeki iyonlarla etkileşime girebilir. Bunu yaparken, kemiğin normal bileşenlerinin yerini değiştirerek metal veya iyonun tutulmasına neden olabilirler.
Stratum korneum	Cilt ile temas eden yüksek derecede lipofilik maddeler (log P 4 ile 6 arasında) lipid açısından zengin stratum korneuma kolaylıkla nüfuz edebilir, ancak sistemik olarak iyi emilmez. Stratum korneumda kalıcı olsalar da, stratum korneum tabakası döküldükçe sonunda temizleneceklerdir.

Metabolizma

Maddelerin farklı türler tarafından ve farklı dokular içinde metabolize edilme şeklindeki farklılıklar, tür ve yola özel toksisitenin ana nedenidir. Karaciğer, metabolizma için en büyük kapasiteye sahiptir ve genellikle özellikle oral alımın ardından yola özel sistemik öncesi etkilere (ilk geçiş) neden olur. Bununla birlikte, yola özgü toksisite, sindirim veya solunum yolları içinde hidroliz, ayrıca sindirim yolu florası tarafından veya sindirim yolu epitelinde (esas olarak ince bağırsakta) (inceleme için bkz. Noonan ve Wester, 1989), solunum yolu epitelinde (bölgeler arasında burun boşluğu, trakeo-bronşiyal mukoza [Clara hücreleri] ve alveoller [tip 2 hücreler] bulunur) ve ciltte metabolizma gibi çeşitli olaylardan kaynaklanabilir.

Sadece fiziko-kimyasal bilgilere dayanarak bir maddenin geçirebileceği metabolik değişiklikleri tahmin etmek çok zordur. Bir molekülün yapısına bakmak ve potansiyel metabolitleri tanımlamak mümkün olsa da, bu reaksiyonların *in vivo* gerçekleşeceği hiçbir şekilde kesin değildir (örneğin molekül, belirli bir reaksiyonun gerçekleşmesi için gerekli bölgeye ulaşmayabilir). Farklı yollar boyunca ne ölçüde metabolize edileceğini ve hangi tür farklılıklarının olabileceğini tahmin etmek daha da zordur. Sonuç olarak, deneysel veriler, potansiyel metabolik yolların değerlendirilmesine yardımcı olacaktır (bkz. Bölüm [R.7.12.2.2](#)).

Boşaltım

Sistemik dolaşımdaki maddeler için ana atılım yolları idrar ve/veya dışkıdır (safra yoluyla ve doğrudan sindirim yolu mukozasından; bkz. Rozman, 1986).

Böbrekte yer alan boşaltım süreçleri, zar gözeneklerinden pasif glomerüler filtrasyon ve taşıyıcı süreçler yoluyla aktif tübüler sekresyondur. İdrarla atılan maddeler suda çözünür ve düşük moleküler ağırlıklı (sıçanda 300'ün altında, çoğunlukla anyonik ve katyonik bileşikler) olma eğilimindedir ve genellikle faz II biyodönüşümden konjuge metabolitlerdir (örneğin, glukuronidler, sülfatlar, glisin konjugatları). Bunların çoğu, böbrekler tarafından kandan filtrelenmiş olacaktır, ancak küçük bir kısmı doğrudan pasif yayılım yoluyla idrara girebilir ve tübüler epitel boyunca sistemik dolaşıma yeniden emilme potansiyeli vardır.

Biliyer boşaltım (Smith, 1973) pasif yayılımdan ziyade aktif salgılama içerir. Safrada salgılanan maddeler daha yüksek moleküler ağırlıklara sahip olma eğilimindedir veya glukuronidler veya glutatyon türevleri olarak konjuge edilebilir. Sıçanda, moleküler ağırlıkları yaklaşık 300'ün altında olan maddelerin safra içerisinde boşaltım eğiliminde olmadığı bulunmuştur (Renwick, 1994). Tür farklılıkları vardır ve maddenin tam doğası da bir rol oynar (Hirom ve ark., 1972; Hirom ve ark., 1976; Hughes ve ark., 1973). Karaciğerde oluşan metabolitler, kan dolaşımına girmeden doğrudan safraya atılabildiğinden, bileşiklerin safra yoluyla boşaltımı, karaciğer fonksiyonundan oldukça etkilenir. İlave olarak, kan akışı belirleyici bir faktördür.

Safradaki maddeler dışkı ile atılmadan önce bağırsaklardan geçer ve sonuç olarak enterohepatik geri dönüşüme (safranın üretildiği karaciğerden, yağların ve diğer maddelerin sindirimine yardımcı olduğu ince bağırsağa ve karaciğere geri dolaşımı) uğrayabilir, bu da biyolojik yarı ömürlerini uzatır. Bu, daha sonra sindirim kanalından yeniden emilebilen daha küçük lipid çözünür moleküller oluşturmak üzere sindirim bakterileri tarafından hidrolize edilen konjuge moleküller için özellikle bir sorundur.

Yeniden dolaşıma girme olasılığı daha düşük olan bu maddeler, güçlü polariteye ve yüksek moleküler ağırlığa sahiptir. Dışkı ile atılan diğer maddeler, sistemik dolaşımdan doğrudan sindirim sistemine yayılan maddeler, dışarı akış mekanizmalarıyla sindirim mukozasından uzaklaştırılan maddeler ve yutulan veya solunan ve ardından yutulan emilmeyen maddelerdir. Bununla birlikte, meydana gelmiş olabilecek metabolik değişikliklere bağlı olarak, nihayet salgılanan bileşik, ana bileşiğin fiziko-kimyasal özelliklerinden çok azına sahip olabilir veya hiçbirine sahip olmayabilir.

Tablo R.7.12—6 Boşaltım ilgili verilerin yorumlanması

Yol	Uygun fiziko-kimyasal özellikler
İdrar	İdrarla atılım için uygun özellikler düşük moleküler ağırlık (sıçanda 300'ün altında), suda iyi çözünürlük ve molekülün idrar pH'ında iyonlaşmasıdır.
Solunan Hava	Buharlar ve gazların solunan hava ile atılması muhtemeldir. Ayrıca uçucu sıvılar ve uçucu metabolitler, solunan havada buhar olarak atılabilir.
Safra	Sıçanda safra ile atılan moleküller amfipatik (hem polar hem de polar olmayan bölgeleri içerir), hidrofobik/güçlü polar olup, yüksek moleküler ağırlığa sahiptir. Genel olarak, moleküler ağırlığı 300'ün altında olan organik katyonlar için sıçanlarda %5-10'dan fazlasının safra ile atılması olası değildir, organik anyonlar için (örn. kuarterner amonyum iyonları) bu eşik değeri daha düşük olabilir (Smith, 1973). Safra ile atılan maddeler potansiyel olarak enterohepatik dolaşıma girebilir. Bu, daha sonra sindirim kanalından yeniden emilebilen daha küçük lipid çözünür moleküller oluşturmak üzere sindirim bakterileri tarafından hidrolize edilen konjuge moleküller için özellikle bir sorundur. Yeniden dolaşıma girme olasılığı daha düşük olan bu maddeler, güçlü polariteye ve yüksek moleküler ağırlığa sahiptir. İnsanlarda safra atılımının belirleyicileri hakkında çok az şey bilinmektedir.
Anne sütü	Plazmada bulunan maddeler genellikle anne sütünde de bulunabilir. Yağda çözünen maddeler, sütte kanda/plazmada olduğundan daha yüksek konsantrasyonlarda bulunabilir. Emzirme küçük bir boşaltım yolu olmasına rağmen, yeni doğanların anne sütü yoluyla maruz kalması bazı maddeler için toksikolojik öneme sahip olabilir.
Tükürük/ter	İyonlaşmayan ve yağda çözülebilen moleküller tükürük ile dışarı atılabilir (burada tekrar yutulabilir) veya terle atılabilir.
Saç/tırnaklar	Metal iyonları saç ve tırnaklara dahil olabilir.
Deri soyulması	Stratum korneuma nüfuz eden ancak canlı epidermise nüfuz etmeyen yüksek düzeyde lipofilik maddeler deri hücreleriyle birlikte soyulabilir.

R.7.12.2.2 TK bilgilerinin oluşturulması ve birleştirilmesi

In vivo çalışmalar, toksisite çalışmalarının sonuçlarıyla karşılaştırmak için sağlam biyolojik sistemdeki farklı süreçlerin bağıl önemi hakkında bütünlük bir bakış açısı sağlar. Geçerli bir TK veri seti sağlamak için, bir *in vivo* çalışmada toksikokinetiğin kan/plazma kinetiği, kütle dengeleri ve boşaltım deneyleri ile doku dağılım deneylerini içeren birkaç deneyden oluşması gerekir. Çözülecek probleme bağlı olarak, seçilmiş deneyler (örneğin plazma kinetiği), ileri değerlendirmeler için gerekli verileri (örneğin biyoyararlanım) sağlamak için yeterli olabilir.

Bir ADME çalışmasında uygulanan yüksek doz seviyesi, toksisite çalışmalarında olumsuz etkilere neden olanlarla ilişkilendirilmelidir. İdeal olarak, beklenen insan maruz kalma aralığında olması gereken, toksik etkisi olmayan bir doz bulunmalıdır. Toksik doz seviyeleri ile insan maruz kalma değerlerini temsil etmesi muhtemel olanlar arasındaki bir karşılaştırma, olumsuz etkilerin yorumlanması için değerli bilgiler sağlayabilir ve ekstrapolasyon ve risk değerlendirmesi için gereklidir.

Bir *in vivo* çalışmada, sistemik biyoyararlanım genellikle, ekstra ve intravasküler (damar içi ve dışı) uygulamadan sonra, boşaltılan doza göre düzeltilmiş miktarların ya da plazma (kan, serum) kinetik profillerinin eğrisi altındaki doza göre düzeltilmiş alanların (AUC) karşılaştırılmasıyla tahmin edilir. Sistemik biyoyararlanım, damar dışı madde uygulamasından sonra doza göre düzeltilmiş atılan miktar veya AUC değerinin, damar içi madde uygulamasından sonra belirlenen doza göre düzeltilmiş atılan miktara veya AUC değerine bölünmesiyle elde edilir; bu, tanımı gereği %100 biyoyararlanıma karşılık gelir. Bu sadece bileşiğin kinetiğinin doğrusal olması, yani dozla orantılı olması ve klirensin deneyler arasında sabit olduğu varsayımına dayanması durumunda geçerlidir. Kinetik doğrusal değilse, deneysel stratejinin ilgili doğrusal olmama şekline (örn. doyurulabilir protein bağlanması, doyurulabilir metabolizma vb.) dayanılarak duruma göre revize edilmesi gerekir.

Genel olarak, *in vitro* çalışmalar, metabolizma gibi farmakokinetiğin belirli yönleri hakkında veri sağlar. *In vitro* çalışmaların önemli bir avantajı, toksisite testlerinde kullanılan türlerden numuneler ve insanlardan alınan numuneler üzerinde paralel testler gerçekleştirmenin mümkün olmasıdır, böylelikle türler arası karşılaştırmalar (örn., metabolit profili, metabolik hız sabitleri) kolaylaştırılır. Son yıllarda, uygun PBK modellerinin kullanılmasıyla bir dizi *in vitro* sonucun bir ADME *in vivo* tahminine bütünlüğü için yöntemler geliştirilmiştir. Bu tür yöntemler, hem gelişimin erken aşamalarında *in vivo* kinetiğin tahminine hem de tüm mevcut verilerin bir ADME tahmin modeline aşamalı olarak bütünlüğüne izin verir. ADME ile ilgili elde edilen bilgiler hem geliştirme kararlarına bilgi sağlamak için hem de risk değerlendirme sürecinin bir parçası olarak kullanılabilir. Tahminle ilişkili belirsizlik, büyük ölçüde mevcut veri miktarına bağlıdır.

Test maddeleri ve analitik metodoloji

TK ve metabolizma çalışmaları, işaretlenmemiş bileşikler, kararlı izotop işaretli bileşikler, radyoaktif olarak işaretlenmiş bileşikler veya ikili (kararlı ve radyoaktif) işaretleme kullanılarak gerçekleştirilebilir. İşaretler metabolik olarak kararlı pozisyonlara yerleştirilmeli, ¹⁴C gibi işaretlerin test hayvanının karbon havuzuna girebilecekleri pozisyonlara yerleştirilmesinden kaçınılmalıdır. Test maddesinde metabolik bir bozunma meydana gelebilirse, tüm ilgili bozunma yollarını belirleyebilmek için farklı işaretleme pozisyonları dikkate alınmalıdır.

Radyoaktif-test yöntemlerinde yeterli hassasiyeti sağlamak için radyoaktif işaretli bileşik yüksek radyokimyasal saflıkta ve yeterli özel aktiviteye sahip olmalıdır.

Biyotadaki idrar, plazma, safra ve diğerleri gibi birden fazla radyoaktif oranı saflaştırmak ve ayırmak için metabolizma çalışmalarında ayırma teknikleri kullanılır. Bu teknikler, sıvı-sıvı özütleme ve kolon kromatografisi gibi nispeten basit yaklaşımlardan HPLC (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) gibi daha karmaşık tekniklere kadar değişir. Bu yöntemler aynı zamanda bir metabolit profilinin oluşturulmasına da izin verir. Vücuttaki ana bileşik ve metabolitlerin konsantrasyonlarını zamanın bir fonksiyonu olarak izlemek için nicel analitik yöntemler gereklidir. Kullanılan en yaygın teknikler, LC/MS (sıvı kromatografi/kütle spektroskopisi) ve UV saptamalı yüksek performanslı LC veya ¹⁴C işaretli malzeme kullanılıyorsa, radyoaktivite saptamalı HPLC'dir. Kinetik parametrelerin, genel bir kinetik tahmini elde etmek için toplam radyoaktivite ölçümünden genellikle hesaplanamayacağı belirtilmelidir. Bununla birlikte, kesin değerler üretmek için ana bileşik ve metabolitleri ayrı ayrı ele almak gerekir. Radyoaktiviteyi kimyasal tür olarak tanımlamak için analitik bir adım gereklidir. Bu genellikle soğuk analitik yöntemlerden daha hızlıdır. Çift işaretleme (örn. ¹³C ve ¹⁴C/¹²C), metabolitlerin yapısal açıdan aydınlatılması için (MS ve NMR [nükleer manyetik rezonans] spektroskopisi ile) tercih edilen yöntemdir. Kararlı izotop işaretleme (GC/MS [gaz kromatografisi/kütle spektroskopisi] veya LC/MS için) içeren soğuk bir analitik teknik, yararlı bir birleşimdir. Bu ikinci yöntem, çeşitli matrislerde (idrar, dışkı, kan, yağ, karaciğer, böbrek vb.) test bileşiği için halihazırda geliştirilmemişse, radyoaktif işaretli bileşiğin kullanımı diğer yöntemlerden daha az maliyetli olabilir.

Herhangi bir TK çalışmasında, testte kullanılan maddenin kimliği ve saflığı garanti edilmelidir. İstenmeyen safsızlıkları tespit edebilen analitik yöntemlerin yanı sıra, ilgilenilen maddenin partiden partiye tekdüze potansiyele sahip olmasını sağlamak üzere yöntemler gerekli olacaktır. TK çalışmalarında kullanılan organizmalara test maddesinin uygulandığı formun kararlılık ve tekdüzeliğini izlemek için ek yöntemler gerekecektir. Son olarak, TK çalışmalarında test maddesinin tanımlanması ve miktarının belirlenmesi için uygun yöntemler kullanılmalıdır.

Analitik yöntemler bağlamında, *doğruluk*, bir numunenin analiz için raporlanan ortalama değerinin numunede analiz edilen gerçek madde miktarına ne kadar yakın olduğunu belirtirken, *kesinlik*, ortalama sonuç civarında ölçülen değerlerdeki saçılma miktarını ifade eder. Ortalama analiz sonucu numunedeki gerçek miktar ile uyuşmuyorsa, testin *yanlılık* içerdiği, yani özgünlükten yoksun olduğu söylenir; yanlılık, düşük geri kazanım nedeniyle de olabilir.

Analiz özgünlüğü, belki de karşılaşılan en ciddi sorundur. *Körlerin*, test maddesinin yokluğunda hiçbir cihaz cevabının elde edilmeyeceğine dair bir miktar güvence sağlamasına rağmen, daha iyi bir yaklaşım test maddesinin diğer birçok maddeyle ortak olmayan bazı biyolojik, kimyasal veya fiziksel özelliklerine cevap veren ve bir cihaz veya biyoanaliz seçmektir.

Ayrıca, analiz yönteminin toksik madde ve metabolitleri için yeterince geniş bir konsantrasyon aralığında kullanılabilir olması da gereklidir. Analitik bir yöntem için alt güvenilirlik sınırı farklı şekillerde algılanmıştır; genellikle, *hassasiyet* terimi, bir analitik yöntemin bir maddenin küçük miktarlarını doğru ve gerekli hassasiyetle ölçebilme yeteneğini belirtmek için kullanılmıştır.

Tüm bu amaçlar için tek bir analitik yöntemin kullanılması olası değildir. Aslında, zaman zaman birden fazla yöntemin kullanılması oldukça arzu edilir. İki veya daha fazla yöntem esasen aynı sonuçları verirse, her yönetime olan güven artar.

ADME verilerinin oluşturulması için önemli yöntemler

Emilimin değerlendirilmesi

Emilim normalde test maddesinin ve/veya metabolitlerinin dışkı, solunan hava ve kadavrada (yani radyoaktivite dengesi) belirlenmesiyle araştırılır. Test ve referans grupları arasındaki biyolojik cevap (örn. oral veya damar içi) karşılaştırılır ve test maddesinin ve/veya metabolitlerinin plazma seviyesi belirlenir.

Deri Yoluyla Emilim

Deriden emilim çalışmalarının yürütülmesine ilişkin teknik rehberler 2004 yılında OECD tarafından yayınlanmıştır (AB B.44²⁷, OECD Test Rehberi 427; AB B.45, OECD Test Rehberi 428; OECD Rehberi 28).

İn vivo yöntemin (EU B.44, OECD TG 427) avantajları, fizyolojik ve metabolik açıdan sağlam bir sistem kullanması, birçok toksisite çalışmasında ortak olan bir türü kullanması ve diğer türlerle kullanılmak üzere değiştirilebilmesidir. Dezavantajlar, hayvan kullanımı, güvenilir sonuçları kolaylaştırmak için radyoaktif işaretli malzemelere duyulan ihtiyaç, erken emilim aşamasının belirlenmesindeki zorluklar ve tercih edilen tür (sıçan) ve insan cildinin geçirgenliğindeki farklılıklardır. Hayvan cildi genellikle daha geçirgendir ve bu nedenle insanlarda deri boyunca (perkütan) emilimi olduğundan fazla tahmin edebilir (ABD EPA, 1992). Sonuçların yorumlanmasında deneysel koşullar da dikkate alınmalıdır. Örneğin, kürklü hayvanlarda deri emilimi çalışmaları, insanlardaki deri emilimini doğru bir şekilde yansıtmayabilir.

İn vitro sistemler, cildin sabit bir yüzey alanına, insan maruz kalması sırasında mevcut olması muhtemel form, hacim ve konsantrasyondaki test maddesinin doğru bir dozunun uygulanmasına izin verir. Bu alandaki yasal rehberlerde yer alan anahtar parametrelerden biri, cildin altındaki depoda (rezervuar) maddenin birikmesiyle analizi yanlı hale getirebilecek olan havuz koşullarının her zaman sürdürülmesi gerektiğidir²⁸. *İn vitro* prosedürde önemli bir endişe konusu, çeşitli cilt katmanlarında, yani cilt tarafından emilen ancak reseptör sıvısına geçmeyen test maddesinin varlığı olmuştur. Çoğu reseptör sıvısında düşük çözünürlükleri nedeniyle çok lipofilik maddeleri *in vitro* incelemenin özellikle zor olduğu kaydedilmiştir. *İn vitro* olarak ciltte tutulan miktar dahil edilerek, cilt emiliminin daha kabul edilebilir bir tahmini elde edilebilir. Suda çözünen maddeler, reseptör sıvısına daha kolay yayıldıkları için *in vitro* olarak daha doğru test edilebilir (OECD Rehberi 28). Şu anda, cilt seviyelerinin emilmiş olarak dahil edilmesi koşuluyla, *in vitro* yöntemlerden elde edilen sonuçların, deri boyunca (perkütan) emilimi ölçmek için bir ikame testi olarak kullanımını destekleyen şekilde *in vivo* deneylerden elde edilen sonuçları yeterince yansıttığı görülmektedir.

²⁷ bkz. Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik.

²⁸ Cildin altındaki depoda madde birikmesi, *in vitro* testler için hücre boyunca sürekli akış kullanılıyorsa, bu tür bir sorun değildir.

Sıçanlar için *in vivo* ve sıçan ve insan cildi için *in vitro* uygun deriye nüfuz verileri mevcutsa, sıçanlardaki *in vivo* deri emilimi, bağıl emilim ışığında *in vitro* sıçan ve insan cildi yoluyla ayarlanabilir. İkinci ayarlama, insan cildinin geçirgenliği genellikle hayvan cildinin geçirgenliğinden daha düşük olduğu için yapılabilir (örneğin, Howes ve ark., 1996). Bununla birlikte, insana ekstrapolasyon için genel olarak uygulanabilir bir düzeltme faktörü türetilemez, çünkü olduğundan fazla tahminin kapsamının doza, maddeye ve hayvana özel olduğu görülmektedir (ECETOC, 1993; Bronaugh ve Maibach, 1987).

In silico modeller, kritik özellikler hakkındaki genel bilgiyi önemli ölçüde artırabilir. Matematiksel cilt geçirgenliği modelleri, genellikle, değerlendirilmekte olan maruz kalma senaryosuyla ilgili olmayabilen sulu çözeltiden alıma dayanır. İlave olarak, bu tür modellerin nicel risk değerlendirme amaçları için kullanımı genellikle sınırlıdır, çünkü bu modeller genellikle deri kalıntısı seviyelerinin davranışını göz ardı eden şekilde *in vitro* verilerle doğrulanmıştır. Bununla birlikte, bu modeller bir tarama aracı olarak veya cilde nüfuz etme potansiyelinin nitel karşılaştırması için yararlı olabilir. Durum bazında ve bilimsel olarak gerekçelendirilirse, (nicel) yapı aktivitesi ilişkilerinin kullanımı, özellikle yakından ilişkili maddelerden oluşan bir grup içinde faydalı olabilir.

Toksik Kimyasalların Deri Yoluyla Emiliminin Değerlendirilmesi ve Tahmini (EDETOK) üzerine bir projenin yürütülmesi dikkate değerdir (Williams, 2004). Kimyasalların deri yoluyla emilimi/nüfuz etmesi ile ilgili *in vivo* ve *in vitro* verilerle eleştirel olarak değerlendirilmiş büyük bir veritabanı oluşturulmuştur. <http://edetox.ncl.ac.uk> adresinden erişilebilir. Bu verilere dayanarak, mevcut nicel yapı aktivite ilişkileri değerlendirilmiştir (Fitzpatrick ve ark., 2004). Ayrıca, yeni oluşturulan verilerin bazılarını yorumlamak için kullanılan mekanik tabanlı bir model, basit bir zar modeli ve deri boyunca emilim kinetiğinin bir yayılım modeli olmak üzere yeni modeller geliştirilmiştir. Tüm bu modeller çoğunlukla oldukça büyük organik moleküllere dayandırılmış ve uygulanmıştır ve bu nedenle inorganik maddelerin değerlendirilmesiyle sınırlı ilgiye sahiptir. Ayrıca, deri yoluyla emilim/nüfuz etme ile ilgili *in vitro* çalışmaların yürütülmesi için bir rehber doküman geliştirilmiştir ve <http://www.ncl.ac.uk/edetox/> adresinden edinilebilir. Esas olarak organik maddelerle elde edilen deneyimlere dayanmasına rağmen, bu tür çalışmaların yürütülmesine ilişkin bu pratik rehberin bazı kısımları inorganik maddeler için de geçerlidir.

Dağılımın Değerlendirilmesi

Bir maddenin vücuttaki dağılımının belirlenmesi için şu anda dağılım modellerinin analizi için kullanılabilen iki yaklaşım vardır. İlk olarak tüm vücut otoradyografik teknikleri kullanılarak ve ikinci olarak maruz kalmadan sonra hayvanların farklı zamanlarda öldürülmesi ve doku ve organlarda test maddesi ve/veya metabolitlerin konsantrasyonunun ve miktarının belirlenmesi yoluyla nicel bilgi elde edilebilir (B.36²⁹, OECD Test Rehberi 417).

Birikimli Potansiyelin Değerlendirilmesi

Biyokonsantrasyon, suda yaşayan bir organizma tarafından suda çözülmüş bir maddenin birikimini ifade eder. Statik *biyokonsantrasyon faktörü* (BCF), bir organizmadaki bir maddenin konsantrasyonunun, kararlı hale ulaşıldığında sudaki konsantrasyona oranıdır.

²⁹ bkz. Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik.

Geleneksel olarak, biyokonsantrasyon potansiyeli, balıkları suda çözünmüş maddeye maruz bırakan laboratuvar deneyleri kullanılarak değerlendirilmiştir (C.13²⁹, OECD Test Rehberi 305). Elde edilen balık BCF değeri, biyobirikim potansiyeli için bir vekil ölçü olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır.

Bir maddenin birikim potansiyelini değerlendirmenin başka bir yolu, sıçanları tekrarlı şekilde bir maddeye maruz bırakmak (örn. 4 haftalık günlük uygulama) ve vücut yükünü veya bir zaman sürecinde ilgili bir ortamdaki miktarı belirlemektir.

Birikimli maddeler sütte de ölçülebilir ve bu nedenle ilave olarak anne sütüyle beslenen yavruya aktarım tahminine izin verir.

Metabolizmanın Değerlendirilmesi

İn vivo TK çalışmaları, dokuların ayrı ayrı katkılarından ziyade genellikle sadece toplam metabolik klirens hızlarını (kan/plazma, safra ve dışkılarda radyoaktif işaretli ürünlerin ölçülmesi yoluyla) belirler. Toplam metabolik klirensin, hepatik ve potansiyel ekstrahepatik (karaciğer dışı) metabolizmanın toplamı olduğu dikkate alınmalıdır.

İn vitro testler, izole enzimler, mikrozomlar ve mikrozomal oranlar, ölümsüzleştirilmiş hücre hatları, birincil hücreler ve organ kesitleri kullanılarak gerçekleştirilebilir. Metabolizma için en ilgili organ olması nedeniyle çoğu zaman bu materyaller karaciğerden elde edilir, ancak bazı durumlarda diğer organlardan hazırlananlar potansiyel organa özel metabolik yolların araştırılması için kullanılır.

Metabolik olarak yetersiz hücreler kullanıldığında, kültürlerle genellikle eksojen bir metabolik aktivasyon sistemi eklenir. Bu amaçla, yüksek konsantrasyonda metabolize edici enzimler içeren tüm karaciğer dokusu homojenatının post-mitokondriyal 9000x g süpernatantı (S9 oranı) en yaygın şekilde kullanılır - donör (bağışçı) türlerin çalışma bağlamında dikkate alınması gerekir. Tüm durumlarda, metabolitlerin özel olarak tanımlanmasıyla ya da süreçte kaybedilen ana madde miktarının eksiltici şekilde hesaplanmasıyla metabolizma doğrudan değerlendirilebilir.

Boşaltımın Değerlendirilmesi

Ana boşaltım yolları idrar ve/veya dışkıdır (safra yoluyla ve doğrudan sindirim mukozasından; bkz. Rozman, 1986). Bu amaçla idrar, dışkı ve solunan hava ve belirli durumlarda safra toplanır ve bu dışkıdaki test maddesi ve/veya metabolitlerin miktarı ölçülür (B.36²⁹, OECD Test Rehberi 417).

Tükürük, süt, gözyaşı ve ter gibi diğer biyolojik sıvılardaki maddelerin (metabolitler) boşaltımı, renal veya safra yoluyla boşaltım ile karşılaştırıldığında genellikle ihmal edilebilir düzeydedir. Bununla birlikte, özel durumlarda, bu sıvılar izleme amacıyla ya da bebeklerin maruz kalmasının değerlendirilmesine olanak tanıyan şekilde süt söz konusu olduğunda çalışılma açısından önemli olabilir.

Uçucu maddeler ve metabolitler için solunan hava önemli bir eliminasyon yolu olabilir. Bu nedenle, solunan hava ilgili durumlarda incelenecektir.

In silico yöntemler - Kinetik modelleme

Toksikokinetik için *in silico* yöntemler, vücuttaki maddelerin Emilimi, dağılımı, metabolizması ve eliminasyonunun fizyolojik olgularını anlamak üzere kullanılacak matematiksel modeller olarak tanımlanabilir. Bu yöntemler, örneğin, QSAR modellerini, ortam modellerini veya allometrik denklemleri bir araya getirir (Ings, 1990; Bachmann, 1996). Klasik (*in vitro*, *in vivo*) yöntemlere kıyasla başlıca avantajları, belirli bir ajanın toksikokinetiğini daha hızlı, daha ucuz şekilde tahmin etmeleri ve deney hayvanlarının sayısını azaltmalarıdır. *In silico* ve *in vitro* olarak oluşturulan bilgileri birleştiren yaklaşımların ayrıntılı bir tartışması bu belgede [Ek R.7.12-2](#) 'de sunulmuştur.

Kinetik modelleri kullanırken, iki zıt durum şematik olarak tanımlanabilir:

- bazı parametrelerin ya da tüm parametrelerin değerleri bilinmemektedir ve model, veri setinden bu parametre değerlerini elde etmek için verilere ayarlanır (grafik oluşturulur): bu, eğri oluşturma durumudur.
- veya parametre değerlerinin bilindiği kabul edilir ve model temsil edilmiş veri setleri oluşturmak için kullanılır: bu temsil (simülasyon) durumudur.

Eğri oluşturma ve temsil işlemlerini gerçekleştirmek için, doğrulanmış uygun yazılımda uygulanan uygun algoritmalar mevcuttur. Hem model eğrisi oluşturma hem de temsil işlemlerinin belirli teknik sorunları ve tuzakları vardır ve bunlar yeterince eğitilmiş bilim adamları veya bilimsel ekipler tarafından gerçekleştirilmelidir. Simülasyon (temsil) son derece yararlı bir araçtır, çünkü gerçek veri oluşturmak veya toplamanın mümkün olmadığı ve çoğu zaman asla mümkün olmayacağı durumları tahmin etmenin tek yolu budur. Ekli belirsizlik tahminleriyle birlikte dikkatlice tasarlanmış simülasyonların sonuçları, nicel risk değerlendirmesi için mevcut tek araçlardır. Model oluşturma adımları ne kadar iyi gerçekleştirilirse, tahminler o kadar iyi tanımlanır ve sonuçta daha iyi bilgilendirilmiş düzenleyici kararlara yol açar.

Bir risk değerlendirmesi bağlamında, TK ilişkisini mümkün olan en iyi şekilde tanımlamak için, *in vitro* ve *in vivo* deneylerden toplanan TK bilgileri, *in silico* modellere dayanılarak analiz edilebilir. *In silico* modellerde toksikokinetiğin amacı, konsantrasyonları tanımlamak veya tahmin etmek ve ana maddenin veya aktif metabolitinin dahili dozunu tanımlamaktır. Bu önemlidir, çünkü dahili dozlar toksik etkileri tahmin etmek için harici maruz kalmadan daha iyi bir temel sağlar. Harici maruz kalmadan veya dahili dozdan kaynaklanan farmakolojik veya toksikolojik etkilerin tahmini, *in silico* farmakolojik veya toksikodinamik modellemeye dayanır. Farmakokinetik modellerin (doz / maruz kalma ve vücuttaki konsantrasyonlar arasındaki ilişkileri açıklar), farmakodinamik modellerle (konsantrasyonlar veya konsantrasyondan türetilmiş dahili doz tanımlayıcıları ve etkiler arasındaki ilişkiyi tanımlar) birlikte kullanımına farmakokinetik/farmakodinamik modelleme veya PKPD modelleme adı verilir. Toksikokinetik/toksikodinamik modelleme veya TKTD terimi aynı kavramı kapsar.

TK modelleri tipik olarak vücutta, maddelerin içinden geçtiği veya dönüştürüldüğü bir dizi ortam olarak tanımlar. İki ana sınıfa ayrılırlar: *deneysel* modeller ve fizyolojik tabanlı kinetik modeller (PBK) (Andersen, 1995; Balant ve Gex-Fabry, 1990; Clewell ve Andersen, 1996; Gerlowski ve Jain, 1983). Tüm bu modeller, vücutta toksik ajanın homojen olarak dağıldığının varsayıldığı ortamlara ayırarak karmaşık fizyolojiyi basitleştirir (Gibaldi ve Perrier, 1982).

Deneysel TK modelleri, vücudu tür anatomisini yansıtmayan bir veya iki (nadiren üçten fazla) ortam ile temsil eder. Bu modeller basittir (az sayıda parametre içerir), birçok kinetik türünün tanımlanmasına izin verir ve deneysel verilere kolayca uyarlanabilir.

Deneysel kinetik modellerin yapısı ve parametre değerleri, ister deneysel ister gözlemsel olsun, esasen veri kümelerinin kendileri tarafından belirlenir. Veri setleri genellikle çeşitli sıvı veya dokularda, çeşitli türlerin çeşitli bireylerinde çeşitli doz veya maruz kalma düzeylerinde çeşitli yollarla dozlama veya maruz kalmadan sonra konsantrasyona karşı zaman eğrilerinden oluşur. Klasik kinetik modeller, ADME olaylarının meydana geldiği az sayıda ortam (genellikle bileşik veya metabolit başına 1 veya 2, nadiren 3, istisnai olarak 3 üzerinde) ile vücudu temsil eder. Olaylar, modellerin parametreleri olan *sanal* hacim terimleri ve aktarım hızları kullanılarak tanımlanmıştır. Hacim parametrelerinin işlevi, ölçülen konsantrasyonları (örn. plazmada) vücutta bulunan ksenobiyotik miktarlarına ilişkilendirmektir. Modelde açıklanan hacimlerin genellikle fizyolojik karşılığı yoktur.

Modelin kendisinin yapısı, büyük ölçüde tanımlamaları amaçlanan veri setleri tarafından belirlenir. Bu nedenle, bu modellerin genellikle *veri odaklı* veya *yukarıdan aşağıya* olduğu söylenir. Fizyolojik tabanlı modellerle karşılaştırıldığında, klasik kinetik modeller, parametre değerlerini elde etmek için modeli verilere uydurarak eğri oluşturmak amacıyla genellikle daha iyi uyarlanır.

Fizyolojik tabanlı (PBK) model, her birine kan/lenfatik dolaşım sistemi tarafından dağıtım sağlanan ve bu sistem aracılığıyla bağlanan vücudun doku ve organlarını içeren bağımsız bir yapısal matematiksel modeldir. PBK modelleri dört ana parametre türünü içerir:

- Fizyolojik
- Anatomik
- Biyokimyasal
- Fiziko-kimyasal

Fizyolojik ve anatomik parametreler arasında doku kütleleri ve kan perfüzyon oranları, kalp debisi tahminleri ve alveolar ventilasyon hızları yer alır. Biyokimyasal parametreler arasında enzim metabolik hızları ve polimorfizmleri, enzim sentezi ve inaktivasyon hızları, reseptör ve protein bağlanma sabitleri vb. bulunur. Fiziko-kimyasal parametreler, dağılım katsayılarını ifade eder. Dağılım katsayısı, bir maddenin biyolojik bir ortamda, genellikle kan-hava ve doku-kan içindeki çözünürlüğünün bir oranıdır. Anatomik ve fizyolojik parametreler kolaylıkla elde edilebilir ve çoğu ölçümle elde edilmiştir.

Biyokimyasal ve fizikokimyasal parametreler bileşiğe özgüdür. Bu tür parametreler (bkz. örn. Brown ve ark., 1997; Clewell ve Andersen, 1996; Dedrick ve Bischoff, 1980) ölçüldüğünde ve bir veri setini nitel olarak tanımlayan bir önsel model oluşturmak için kullanıldığında, bu tür bir modele olan güven yüksek olmalıdır. Dağılım katsayıları gibi ölçülen verilerin yokluğunda, bunlar doku bileşimi tabanlı algoritmalar kullanılarak tahmin edilebilir (Theil ve ark., 2003). Metabolik hız sabitleri bir PBK modeli kullanılarak bir eğri üzerine yerleştirilebilir, ancak bu uygulama yalnızca başka alternatifler yoksa yapılmalıdır. Bir model içinde hangi parametrelerin önemli olduğunu belirlemek için bu modellerin (Gueorguieva ve ark., 2006; Nestorov, 1999) bir hassasiyet analizi (aşağıya bakınız) gerçekleştirilebilir.

Yalnızca risk değerlendirme süreci üzerinde önemli etkisi olan parametrelere öncelik vermeye ve bunlara odaklanmaya ve hassas popülasyonu belirlemeye yardımcı olur. Risk değerlendirmesinde değerlendirme faktörlerinin geliştirilmesi için PBK Modellemesinin uygulanabilirliği üzerine bir tartışma, bu belgede [Ek R.7.12-3](#)'te ve Risk Değerlendirmesinde Fizyolojik Tabanlı Farmakokinetik Modellerin Karakterizasyonu ve Uygulanması (2010) IPCS proje belgesinde sunulmuştur.

PBK modellerinin *in vitro* veya *in vivo* bilgilerden tahmin üretme potansiyeli, maddelerin risk değerlendirmesindeki çekici özelliklerinden biridir. Tahminlerin daha sonraki iyileştirme derecesi, kinetik bilginin üretildiği özel amaca ve ayrıca ek veri üretmenin uygulanabilirliğine bağlı olacaktır. Yeni bilgi mevcut olduğunda, PBK modeli kalibre edilmelidir; örneğin Bayes teknikleri bu amaç için kolaylıkla kullanılabilir.

PBK modelleri, ilgili kinetik süreç doğrudan gözlemlenemediğinde ve daha sonra ekstrapolasyonlara ihtiyaç duyulduğunda çok faydalıdır. Gerçekten de türler arası, bireyler arası, dozlar arası veya yollar arası ekstrapolasyonlar, deneysel modellerden ziyade fizyolojik tabanlı kinetiğe dayandıklarında daha kapsamlıdır. Ekstrapolasyon için içsel kapasite, PBK modellerini madde riskini değerlendirmek için özellikle çekici kılar, çünkü ilgili tüm türlerde ve özellikle insanda veya ilgili tüm maruz kalma şemalarında kinetik veri toplamak genellikle imkansız olacaktır. Daha özel olarak, PBK modelleri ayrıca toksikokinetiğin üreme toksisitesi, gelişimsel ve çok nesilli toksikolojik çalışmalarda değerlendirilmesine izin verir. PBK modeli, hamilelik sırasında annede ve embriyo/fetüste maddenin iç dağılımını göstermek için geliştirilebilir (Corley ve ark., 2003; Gargas ve ark., 2000; Lee ve ark., 2002; Luecke ve ark., 1994; Young ve ark., 2001). Toksik maddenin anneden yenidoğana emzirmeyle aktarımı, PBK modelleri kullanılarak da ölçülebilir (Byczkowski ve Lipscomb, 2001; Faqi ve ark., 1998; You ve ark., 1999). PBK'nın temel ilgi alanları, karmaşık hipotezleri (örneğin, bilinmeyen bir metabolizma yolunun veya bölgesinin varlığı gibi) kontrol etme ve dahili dozlar (insanda her zaman gözlemlenemez) hakkında tahminler verme becerisidir. Son olarak, kinetik parametrenin (örn. metabolizma sabiti) tahminine ve biyobelirteçlerden dozun yeniden yapılandırılmasına da izin verirler.

Risk değerlendirmesinde PBK modellerini kullanmanın mantığı, hayvan biyoanalizleri ile insan risk tahminleri arasındaki boşluğu doldurmak için belgelendirilebilir, bilimsel olarak savunulabilir bir yol sağlamasıdır. Özellikle, ilişkilerini doz, tür, yol ve maruz kalma senaryosunun bir fonksiyonu olarak açıkça tanımlayarak risk değerlendirmesini uygulanan dozdan toksik etkiyle daha yakından ilişkili bir doza kaydırırlar. PBK modellerinin artan karmaşıklığı ve veri talepleri, bunları kullanan herhangi bir risk değerlendirmesinin artan doğruluğu, biyolojik inandırıcılığı ve bilimsel gerekçelendirilebilirliği ile dengelenmelidir. Bu nedenle, PBK modellerinin yüksek önem arz eden maddeler için kullanılması daha olasıdır.

Hassasiyet analizi

Biyolojik kavrayış arttıkça, daha karmaşık doğrusal olmayan davranış sergileyen fizyolojik sistemlerin daha karmaşık matematiksel modelleri ortaya çıkacaktır. Bu modellerin başlıca denklemleri genellikle genel bir sayısal teknik kullanılarak nispeten kolaylıkla çözülebilmeye rağmen, genellikle modelin gerçek gücü ürettiği tahminler değil, bu tahminlerin nasıl üretildiğidir. Bu durumda, modeli oluşturmak için bir araya gelen hipotezler birbirleriyle nasıl etkileşime girmektedir? Çıktıyı belirlemede varsayım veya mekanizmalardan hangisi en önemlidir? Model çıktısı, girdi parametrelerindeki veya model yapısındaki değişikliklere karşı ne kadar hassastır?

Girdilerindeki değişkenliğin model çıktısı üzerindeki etkilerinin bir ölçüsünü vererek bu soruları ele alabilen hassasiyet analizi teknikleri mevcuttur. Hassasiyet analizi aşağıdaki amaçlarla kullanılabilir:

- Bir modelin çalışılan organizmayı taklit edip etmediği,
- Bilgiyi güçlendirmek için hangi parametrelerin ek araştırma gerektirdiği,
- *İn vitro* ölçeklendirme gibi yapıların etkisi,
- Çıktı üzerinde önemsiz etkiye sahip olan ve modelden çıkarılabilecek fizyolojik özellikler/bileşiğe özel parametreler,
- Model değişkenliğinin en büyük olduğu parametrelerin uygulanabilir birleşimleri,
- Parametre optimizasyonunda kullanılmak üzere girdi parametreleri alanı içerisinde en uygun bölgeler,
- Parametreler arasında etkileşimin oluşup oluşmadığı ve hangilerinin etkileşime girdiği (Saltelli ve ark., 2000).

Karmaşık bir matematiksel modelden gelen tahminler, model tarafından sağlanan tahminlerin sınırlamalarının değerlendirilebilmesi için ayrıntılı bir hassasiyet analizi gerektirir. Modelin kendisinin tam olarak anlaşılması, fizyolojik ve bileşiğe özel verileri harmanlama çabalarını büyük ölçüde azaltabilir ve bir nüfus içerisindeki insan değişkenliğini daha doğru bir şekilde tahmin eden ve belirli bir bileşiğin toksik etkilerine hassas grupları belirleyen daha gelişmiş ve odaklanmış simülasyonlara yol açabilir.

Belirsizliğin ve Değişkenliğin Önemi

Belirsizlik ve değişkenlik, bir toksikokinetik çalışmasına özgüdür ve potansiyel olarak çalışmanın sonucunu etkiler. Risk analistleri ve karar vericiler için yararlı olabilecek şekilde TK sonuçlarına güven duyulması için bireyler arasında var olabilecek değişkenliği değerlendirmek üzere belirsizliği en aza indirmek gereklidir.

Değişkenlik tipik olarak, bireyler arasında (bireyler arası değişkenlik) veya belirli bir bireyde (birey içi değişkenlik) zaman içinde fizyolojik özelliklerdeki farklılıkları ifade eder. Genetik farklılıklardan, aktivite seviyesinden, yaşam tarzlarından, fizyolojik durumdan, yaştan, cinsiyetten vb. kaynaklanabilir. Değişkenlik, hayvan ve insan popülasyonlarının doğasında vardır. Nüfus hakkında bilgi olarak gözlemlenebilir ve kaydedilebilir, ancak azaltılamaz. Değişkenliğin önemli bir özelliği, bir nüfusun daha büyük örnekleri incelendiğinde azalma eğiliminde olmamasıdır.

Nüfustaki değişkenlik sonrasında TK çalışmalarında dikkate alınmalıdır. PBK modelleri ile ilgili olarak, nüfustaki fizyolojik özelliklerin dağılımını temsil eden parametreler için olasılık dağılımlarının kullanılmasıyla dahil edilebilir.

Bu değişkenliğin model tahminlerine yayılması, Monte Carlo temsil yöntemleri kullanılarak değerlendirilebilir.³⁰

Belirsizlik, kesin ve tarafsız açıklamalar yapamama olarak tanımlanabilir. Temelde bilgi eksikliğinden kaynaklanmaktadır. Bilgilerdeki belirsizlik, incelenen örneklemin boyutu ile azalabilir. Daha fazla optimize edilmiş deneyler veya incelenen sürecin daha iyi anlaşılmasıyla teorik olarak ortadan kaldırılabilir ve en azından azaltılabilir.

Belirsizlik şunlarla ilgili olabilir:

Verilerin deneysel yapısı. Gerçekte, belirsizlik deneysel verilerdeki hatalardan kaynaklanır. Deneysel veriler, tipik olarak, kullanılan araçlara bağlı olarak sonlu kesinlik ile bilinir. Ancak bu tür belirsizlikler, kalite ölçüm verileriyle kolayca değerlendirilebilir. Olasılık dağılımları ile modellenenler (örneğin, ölçülen miktar, ortalama gerçek miktar ve belirli bir standart sapma ile normal olarak dağıtılır). Belirsizlik, veri toplama süreci ve bu aşamada yapılan hatalar (okuma hataları, sistematik ölçüm hataları, vb.) ile de üretilebilir.

Modelleme prosedürü. Belirsizlik, söz konusu olgunun (modelin özel durumu) karmaşıklığı ve bilinmeyen doğası nedeniyle çoğu zaman kaçınılmazdır. Model yapısındaki (ve daha özel olarak PBK modellerindeki) belirsizliğin kaynağı, öncelikle tüm ölçeklerde ilgili olguyu doğru bir şekilde tanımlayacak teorik bilgi eksikliğidir. Bu durumda, dünya tam olarak anlaşılmanmıştır ve bu nedenle tam olarak modellenmemiştir. Bir modelde, büyük miktarda bilgiyi özetlemek kendi başına teknik bir zorluk olabilir. Bir organizma, bileşen ilişkileri hem güçlü hem de çoklu olan bütünleşik bir sistem olarak görülebilir (örneğin, geniş karaciğer hacminin geniş kan akışıyla ilişkili olması beklenebilir). Bir organizmanın karmaşıklığı göz önüne alındığında, bir modelin geliştirilmesinde bileşenleri arasındaki tüm etkileşimleri birleştirmek mümkün değildir (çoğu tam olarak bilinmemektedir ve ölçülmemektedir). Bu nedenle model oluşturucular gerçekliği basitleştirmelidir. Ancak bu tür varsayımlar belirsizlik yaratacaktır. Model belirsizliğini ölçmek için genel bir istatistiksel yaklaşım, ilk olarak bazı veri setlerini tahmin ederken modelin doğruluğunu değerlendirmektir. Farklı varsayımlara dayalı modeller test edilebilir ve istatistiksel kriterler (Akaike kriteri³¹ gibi) modeller arasında ayırım yapmak için kullanılabilir.

Biyolojik sistemlerin yüksek doğal değişkenliği. Değişkenliğin kendisi bir belirsizlik kaynağıdır. Bazı durumlarda (örn. herhangi bir belirsizlik eklenmeden ayrıntılı numaralandırma yoluyla), değişkenliği tam olarak bilmek mümkündür. Bununla birlikte, tam olarak anlaşılmanmış ve rastgele olmaya atfedilmemişse, değişkenlik, tahminlerde bir belirsizlik kaynağı olabilir.

³⁰ Bu yöntemler, her model parametresi için bir olasılık dağılımını belirlemek; her model parametresinin belirtilen dağılımından rastgele numune almak; modeli numune alınmış parametre değerlerini kullanarak çalıştırmak ve ilgili çeşitli model tahminlerini hesaplamaktan oluşur. Parametreler için bağımsız dağılımlar belirlemek yerine, ilişkilerini açıklamak için bir parametre grubuna ortak bir olasılık dağılımı atanabilir.

³¹ Olasılık logaritmasının ölçüsü.

R.7.12.2.3 Değerlendirmeyi iyileştirmek için mevcut olduğunda insan verilerini dahil edilmesi

İnsan biyolojik izleme ve biyolojik gösterge ölçüm çalışmaları, belirli durumlar veya maruz kalma senaryolarının ardından agregat ve/veya toplam emilen madde dozlarının oluşturulması veya taban çizgisi, popülasyon bazlı temel seviyelerin oluşturulması için dozimetrik araçlar sağlar (Woolen, 1993). Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar, örneğin zamansal durumsal biyolojik izleme, insan maruz kalmasının gerçekçi bir tanımını sağlar.

İnsanların maddelere maruz kalmalarının doğrudan veya dolaylı kanıtı için insan dokularının veya dışıklarının rutin analizi olan biyo-izleme, deney hayvanlarında, genellikle sıçanlarda belirlenen doz ve varsayılan toksisite eşikleri arasındaki ilişki hakkında benzersiz bilgiler sağlayabilir. İşyerindeki madde konsantrasyonları ile vücut sıvılarındaki konsantrasyonları arasındaki ilişki üzerine Elkins ve ark. (1954) tarafından yapılan öncü araştırma, Biyolojik Maruz Kalma İndeksi'nin oluşturulmasına yardımcı olmuştur (ACGIH, 2002). İdrar, girişimsel olmayan doğası ve toplama kolaylığı ve çoğu analit için bir boşaltım yolu olarak önemi nedeniyle en sık kullanılan biyolojik örnektir. İzlenecek analit, elde edilen bilgilerin uygunluğunu en üst düzeye çıkarmak için bileşiğin metabolizmasına, biyolojik ilgi düzeyine ve uygulanabilirlik hususlarına bağlı olarak seçilmelidir.

R.7.12.2.4 TK bilgileri kullanımının yararının gösterimi

Bir maddenin etki şeklinin anlaşılması veya en azından benzer bir yapıya ve eyleme sahip bir madde kategorisi aracılığıyla tahmin, test şemalarının özel modülasyonu (hatta feragatı) ve bir maddenin biyolojik aktivitesinin genel yorumu üzerine tartışmayı destekler. Aşağıdaki diyagramlar, mevcut olduğunda TK bilgilerinin kullanılmasıyla ilgili uygulanabilecek düşünme biçimini gösterecektir. Çok nadir durumlarda *evet-hayır* cevabının uygulanabileceği kabul edilmelidir. Çoğunlukla karmaşık bir farklı bilgi örüntüsü, aşağıda verilen basitleştirilmiş standart prosedürlerden sapan özel durumlar yaratır. Maddeye bağlı uzman değerlendirmesine ve hassas test yöntemlerinin tespit sınırlarına dayalı olarak *önemli bir etkinin olmadığı* konusunda *hayır* cevabı anlaşılabilir (karşılaştırma için bkz. KKDİK Ek 8, Bölüm 8.7). Bu nedenle, testlerin ayrı ayrı tasarlanması, etki şeklinin aydınlatılması için veya gruplandırma veya çapraz okuma yaklaşımında sonuçların yorumlanması için TK verilerinin kullanılması ve ayrıca bilgisayarlı PBK model sistemlerinin kullanımı konusunda uzmanlara danışılması gerekir.

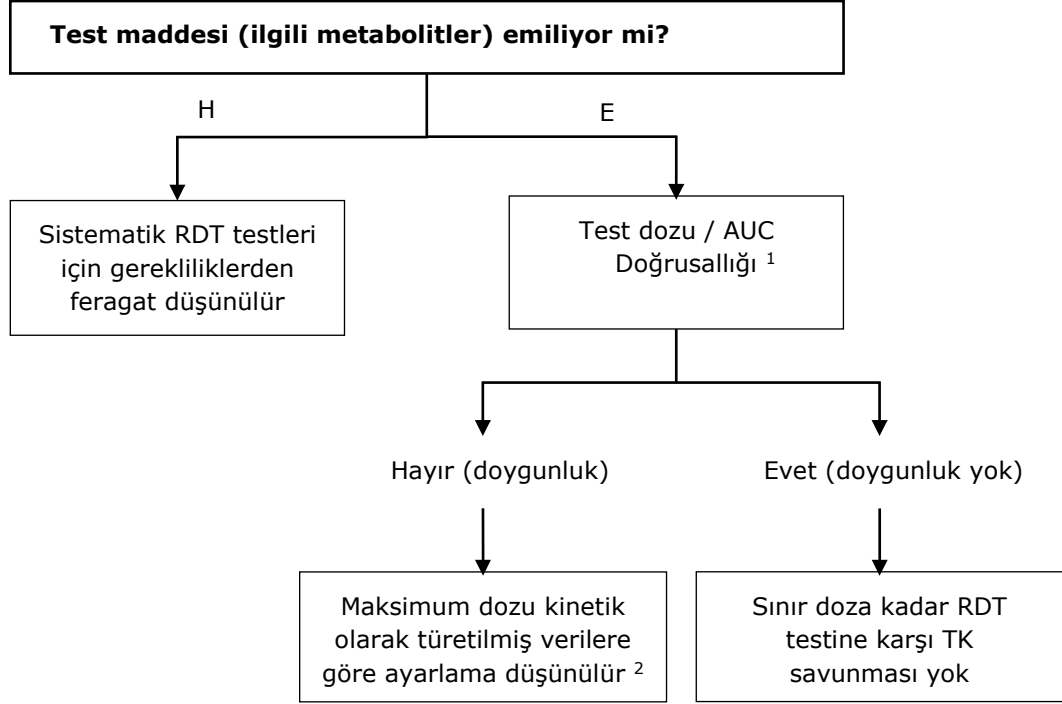
Tekrarlı Doz Çalışmaları için Doz Belirleme Kararlarını desteklemek amacıyla TK bilgilerinin kullanımı

TK verileri, özellikle emilim, metabolizma ve eliminasyon hakkındaki bilgiler, tekrarlı doz toksisitesi (RDT) çalışmalarının tasarım sürecinde oldukça faydalıdır. Tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları, ilgili OECD veya TR rehberlerine göre yapılmalıdır. Bu tür çalışmalarda en yüksek doz seviyesi, test hayvanlarında ölüm veya şiddetli ızdırap değil, toksisiteye neden olmak amaçlanarak seçilmelidir. Bunu yapmak için, OECD veya TR rehberleri, maksimum tolere edilir doz (MTD) isimli standartlaştırılmış bir sınır doz düzeyini test etmeyi önermektedir.

Bu tür dozların belirli durumlarda metabolizmanın doygunluğuna neden olabileceğini ve bu nedenle, bir maddenin kolayca metabolize edilebildiği ve vücuttan temizlenebildiği seviyelerde maruz kalmanın oluşturduğu risk sonuçta değerlendirilirken elde edilen sonuçların dikkatlice değerlendirilmesi gerektiğini hatırlamak uygundur.

Sonuç olarak, tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları tasarlanırken, metabolik ve toksikokinetik araştırmalardan elde edilen sonuçlara dayanarak uygun doz seviyelerinin seçilmesi uygundur. [Şekil R.7.12–1](#) , TK verilerinin tekrarlı doz toksisitesi çalışmaları için doz belirleme kararlarına nasıl yardımcı olabileceğini göstermektedir.

Şekil R.7.12–1 RDT çalışmalarının tasarımında TK verilerinin kullanımı



¹ RDT testleri için değerlendirilen doz aralığında

² En yüksek doz seviyesinin doğrusal olmayan kinetik aralığını aşmaması gerektiği anlamına gelir.

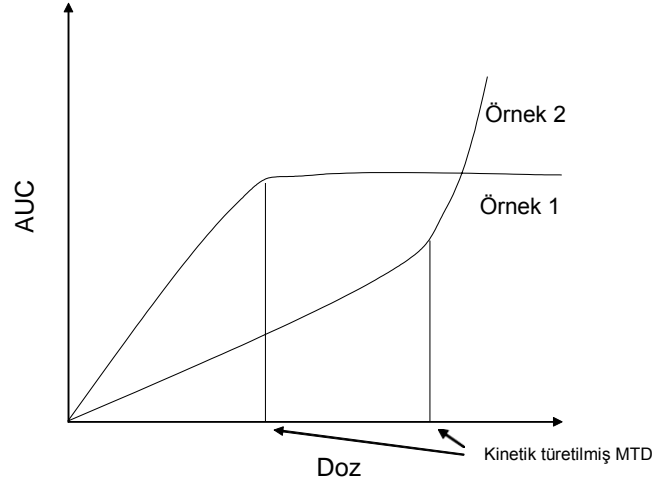
Başlangıçta ele alınması gereken soru, maddenin emilip emilmediğidir. Bir maddenin emilmediği kanıtlanabilirse, doğrudan sistemik etkilere neden olamaz. Böyle bir durumda kinetik bakış açısından, daha fazla tekrarlı doz testine gerek yoktur³². Madde emiliyorsa, uygulanan doz ile kandaki AUC (eğri altındaki alan-EAA) arasında doğrusal bir ilişki olup olmadığı sorusu ortaya çıkar. Durum böyleyse ve madde metabolize edilmiyorsa, OECD veya TR rehberleri tarafından önerilen standartlaştırılmış MTD seviyesinde teste karşı kinetik bir savunma yoktur.

Genellikle doz/AUC ilişkisi, belirli bir dozun üzerinde doğrusallıktan sapar. Bu, [Şekil R.7.12–2](#)'de gösterilmektedir. Her iki durumda da, doğrusallıktan sapma noktasına karşılık gelen doz seviyesi, kinetik olarak türetilen maksimum tolere edilir doz (MTD) olarak kabul edilebilir. Bu konuda bilgi mevcutsa, kinetik olarak türetilmiş MTD uyarınca tekrarlı doz çalışmaları için en yüksek doz seviyesinin belirlenmesi düşünülebilir.

³² Birincil toksik etkilerin dışlanması gerektiğinden ikincil etkilerin yanlış yorumlanması.

Şekil R.7.12—2 Belirli dozlarda doğrusallıktan ayrılma

Örnek 1'de, AUC belirli bir doz seviyesinin ötesinde artmaz. Bu, emilimin belirli bir doz seviyesinin üzerinde doygun hale geldiği durumdur. Örnek 2'de sunulan doz/AUC ilişkisi, eliminasyon veya metabolizma belirli bir doz seviyesinin üzerinde doygun hale geldiğinde elde edilebilir, bu da bu dozun ötesinde eğri altındaki alanda orantılı bir artışa neden olur.



Kategorilerin tasarımında ve doğrulanmasında kinetik bilgilerin kullanımı

In vivo kinetik hakkındaki bilgiler, kategorilerin tasarımına yardımcı olacaktır. *In vitro* veya *in vivo* testlerin gerçekleştirileceği aday kategori maddeleri tanımlanabilir, böylece maddeler arasındaki toksikolojik bulguların ekstrapolasyonu daha alakalı hale gelir.

Bir kategori içinde belirsizlik veya çelişkili bilgi olduğunda, belirli bir maddenin kategorisi veya bir kategoriye üyeliği kinetik bilgileri kullanılarak doğrulanabilir.

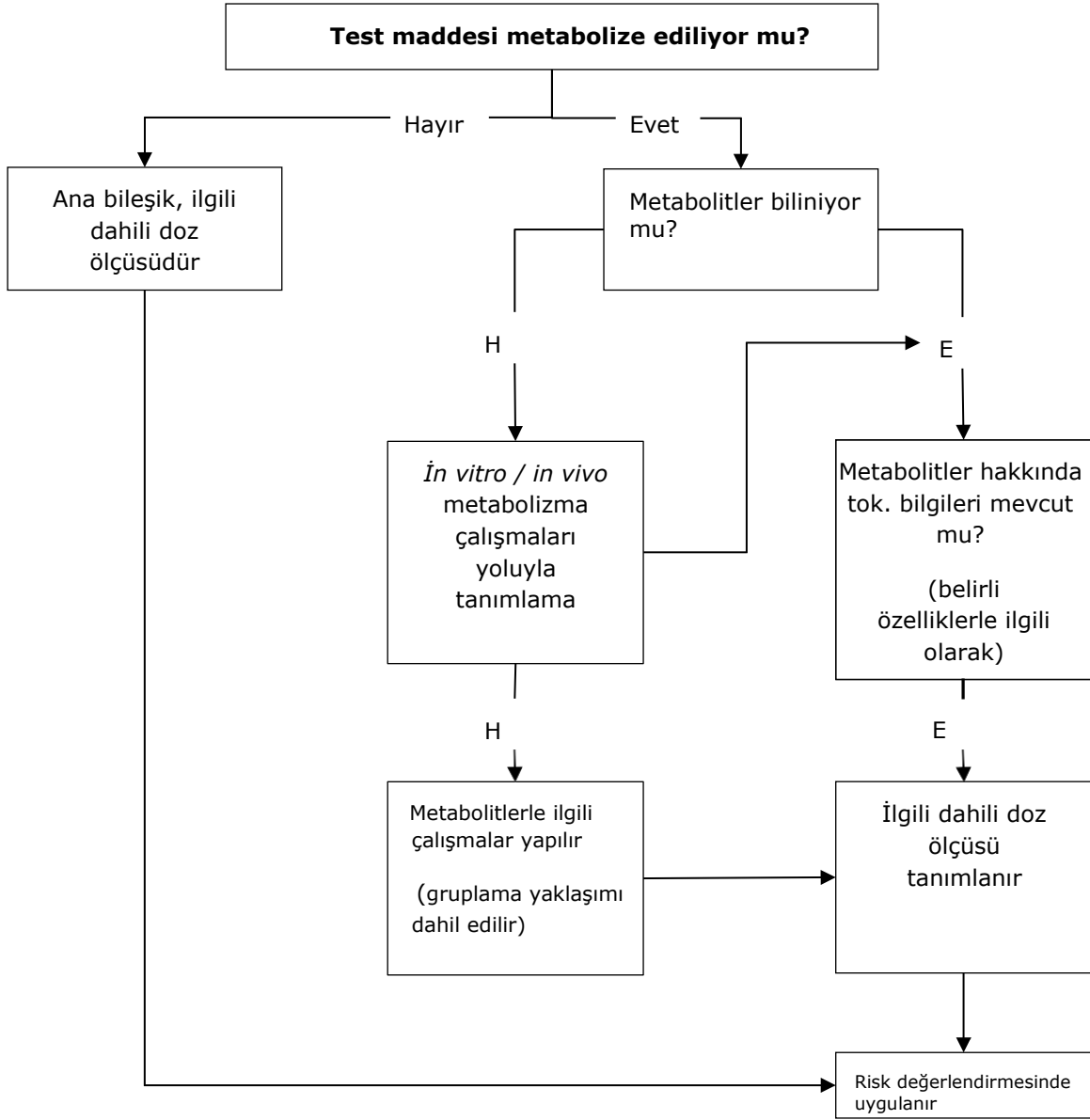
Dahili Doz ile ilgili hususların dayanağı olarak metabolizma çalışmaları

Bir maddenin biyodönüşümü, oluşturuldukları substrattan farklı toksikolojik özelliklere sahip olabilecek metabolitler üretir. Metabolizmaya genel olarak detoksifikasyon amacıyla atıfta bulunulsa da, metabolitlerin ana bileşiğin kendisinden daha yüksek bir iç toksisiteye sahip olduğu birçok örnek de vardır (metabolik aktivasyon). Bu nedenle, test maddesinin metabolize olup olmadığı ve hangi metabolitlerin feragat ve gruplandırma yaklaşımlarına ilişkin toksisite çalışmalarından elde edilen sonuçların değerlendirilmesini sağlamak ve ayrıca bir dahili dozu tanımlamak için gerekli olduğu bilgisi önemlidir (bkz. [Şekil R.7.12—2](#)).

Test maddesi metabolize olmuyorsa, ana bileşik, ölçüm ve dahili dozun tanımı için ilgili göstergedir. Test maddesi metabolize oluyorsa, hangi metabolitlerin oluştuğu bilgisi, değerlendirmedeki herhangi bir ileri adım için gereklidir. Bu bilgi mevcut olmadığında, uygun *in vitro* ve/veya *in vivo* metabolizma çalışmaları ile araştırılabilir (bkz. Bölüm [R.7.12.2.1](#)). Özel durumlarda metabolitler yüksek derecede izomerik özgünlük gösterebilir ve bu, rasematlar dahil olmak üzere izomer karışımlarının tasarımında ve yorumlanmasında akılda tutulmalıdır.

Metabolitler biliniyorsa ve bu metabolitler için toksisite çalışmaları mevcutsa, bu verilere dayalı olarak risk değerlendirmesi yapılabilir ve dahili doz tanımına dayalı bir değerlendirme yapılabilir. Metabolitler için toksisite profili bilinmiyorsa, bu metabolitlerin toksisitesini ele alan çalışmalar, potansiyel grup yaklaşımlarının özel değerlendirmeleri altında gerçekleştirilebilir (özellikle bir kimyasal madde, farklı bileşiklerin metaboliti ise, örneğin farklı esterlerin bir metaboliti olarak karboksilik asit gibi).

Şekil R.7.12–3 Madde metabolizması hakkında artan bilgilerin kullanılması



TK bilgileri, toksisite çalışması tasarımı ve biyo-izleme kurulumundan³³ DNEL (Türetilmiş Etki Gözlemlenmeyen Seviye) türetilmesine ve genellikle ihtiyaç duyulan şekilde çeşitli ekstrapolasyonlara (çapraz doz, insan dahil çapraz türler, çapraz maruz kalma rejimleri, çapraz yollar ve çapraz maddeler) kadar tüm risk değerlendirmesinde karşılaşılan çeşitli boşlukları doldurmada çok yardımcı olabilir. Dahili doz, TK çalışmalarının merkezi çıktı parametresidir ve bu nedenle *harici maruz kalma - dahili doz - kavramı*, bahsedilen çeşitli ekstrapolasyonlarda geniş ölçüde uygulanabilir (ayrıca bkz. Bölüm [R.7.12.2.4](#)). İlave olarak, KKDİK uyarınca, DNEL değerlerinin türetilmesi zorunludur. Bu amaçla, yoldan yola ekstrapolasyon gerekirse ve kombine maruz kalmanın değerlendirilmesi (farklı yollarla) gerekirse, sistemik etkiler için dahili maruz kalmanın tahmin edilmesi gerekebilir.

Maruz kalma, normalde, yutulan madde miktarı, deri ile temas halinde toplam miktar veya solunan miktar ya da uygun şekilde maruz kalma süresi ile birlikte atmosferdeki maddenin konsantrasyonu olarak tanımlanabilen harici maruz kalma olarak anlaşılmalıdır. Sistemik etki verileriyle bir karşılaştırma yapılması gereken durumlarda (örneğin, soluma veya deri yoluyla toksisite değerleri eksik olduğunda veya birden fazla yoldan kaynaklanan maruz kalmaların birleştirilmesi gerektiğinde) toplam vücut yükü tahmin edilmeli ve dahili doz olarak ifade edilmelidir.

Sistemik maruz kalma seviyesinin belirlenmesi, bir maddenin genel dolaşımında biyoyararlanımının belirlenmesi ile eşanlı kabul edilir. Ele alınan soruna ve maruz kalma senaryoları gibi eşlik eden diğer bilgilere bağlı olarak, bu, biyoyararlanımlı oran (F), kütle biyoyararlanımı, konsantrasyon profili, ortalama konsantrasyon veya bir AUC olarak ifade edilebilir. Sadece sağlam deri göz önüne alındığında, deri yoluyla tercih edilen durumlar dışında, biyoyararlanımlı bir maddenin miktarının sıfır olduğunu göstermenin genellikle mümkün olmadığı vurgulanmalıdır. Bu eşik değerler açısından değerlendirilmelidir; amaç, bir maddenin biyoyararlanımının belirli bir eşik altında olup olmadığının tahmin edilmesidir. Tahminin kesinlik derecesi, her bir duruma bağlı olacaktır, önemli faktörler, kullanılan *in vivo*, *in vitro* veya *in silico* modelin doğruluğu ve güvenilirliği, maddeyi veya metabolitlerini analiz etmek için kullanılan yöntemlerin performansı, hedef popülasyonda tahmini değişkenlik ve benzeri durumlardır.

Bir bileşiğin doku dağılım özellikleri, belirli dokularda toksisiteye neden olma potansiyelinin önemli bir belirleyicisi olabilir. İlave olarak doku dağılımı, bir bileşiğin tekrarlı maruz kalma üzerine birikim kabiliyetinin önemli bir belirleyicisi olabilir, ancak bu, bileşiğin temizlendiği hız tarafından büyük ölçüde değiştirilir. Toksikite çalışmalarında hedef dokularla doku dağılımının ilişkisi, örneğin oral emilimi takiben tepe kan konsantrasyonunun vücutta önemli miktarlarda madde mevcut durumdayken bir veya daha fazla kez gerçekleştirilmelidir. Bu tür veriler, mümkün olduğu ölçüde ana bileşiği ve metabolitleri ölçmelidir.

³³ Biyolojik izleme bilgileri, diğer maruz kalma verileri formlarına eşdeğer (yani ne daha büyük ne de daha az öneme sahip olarak) görülmelidir. Biyolojik izleme sonuçlarının, bir bireyin bir maddeye ilgili herhangi bir yoldan toplam maruz kalmasını yansıttığı da unutulmamalıdır (yalnızca mesleki maruz kalma değil, yani tüketici ürünlerinden ve/veya çevreden). Kontrollü insan maruz kalma çalışmalarından elde edilen verilerin mevcut olması daha da imkansızdır. Bu, bireylerin kasıtlı olarak maruz kalmasıyla ilgili pratik ve etik hususlardan kaynaklanmaktadır.

Metabolitler bilinmiyorsa veya ölçülmesi zorsa, ana bileşiğin toplam radyoaktiviteden çıkarılması, oluşan toplam metabolitlerin davranışının bir tahminini sağlayacaktır.

Ekstrapolasyon

Etik nedenlerden ötürü, model parametrelerini tahmin etmeye izin veren veriler zayıftır, seyrek ve genellikle insan popülasyonlarını ilgilendirmez; ekstrapolasyona başvurulması gereklidir. TK verileri çoğunlukla az sayıda konsantrasyon (genellikle 5 farklı konsantrasyondan az) ve sınırlı sayıda farklı maruz kalma süreleri için toplanır. Bununla birlikte, risk değerlendirmesi, farklı dozları da (maruz kalma konsantrasyonları ve süreleri) göstermelidir. Dozlar arası/maruz kalma süreleri arasında ekstrapolasyon, bu talebi karşılayan yaygın bir yoldur - bu amaçla matematiksel yöntemler (örneğin doğrusal regresyon) kullanılır. Biyolojik bir organizmadaki maddelerin doğrusal olmayan kinetik davranışı, örneğin doyurulabilir metabolizma, enzim indüksiyonu, enzim inaktivasyonu ve glutasyon ve diğer kofaktör rezervlerinin tükenmesi gibi bir dizi mekanizmanın sonucudur. Doku dozunun yüksek-dozdan düşük-doz ekstrapolasyonu, bu tür mekanizmalar hesaba katılarak PBK modellemesi ile gerçekleştirilir (Clewel ve Andersen, 1996).

Gönüllü insanlar üzerinde verilerin mevcut olduğu ender durumlarda, bunlar yalnızca çok sınırlı sayıda kişiyle ilgilidir. Diğer bir yapıya ve küresel nüfusa ekstrapolasyon yapılmalıdır (bireyler arası ekstrapolasyon). Hassas nüfus sorunu da ortaya çıkar ve TK çalışması örneğin diğer cinsiyet, yaş veya etnik grupları belirtmelidir.

İnsanlarda dahili dozu kontrol etmek neredeyse imkansız olduğundan, genellikle alternatif hayvan çalışmaları önerilmektedir. Risk değerlendirmesi insan nüfusunu korumayı amaçladığından, türler arası ekstrapolasyon (Davidson ve ark., 1986; Watanabe ve Bois, 1996) yapılmalıdır. Pratik nedenlerden dolayı, deneysel çalışmadaki uygulama yolu, en olası maruz kalma yolundan farklı olabilir. Risk değerlendirmesi, deneysel olarak çalışıldan başka bir yol üzerinde sonuca varmayı gerektirir. Sonrasında yollar arası ekstrapolasyon gerçekleştirilmelidir.

Varsayılan değerler, genel bir şekilde ekstrapolasyon fikrine uyacak şekilde türetilmiştir. Kimyasal özel ayarlama faktörlerinin (CSAF) geliştirilmesi yoluyla toksikokinetik ve toksikodinamikte türler arası farklılıklar veya insan değişkenliği üzerine nicel verilerin doz/konsantrasyon-cevap doz değerlendirmesine dahil edilmesi, tekli maddelerin risk değerlendirmesini iyileştirebilir. Mevcut durumda, dikkate alınacak ilgili veriler, genellikle toksikokinetikteki türler arası farklılıklarla ilgili belirsizlik bileşeniyle sınırlıdır. Şu anda, toksikodinamikteki türler arası farklılıklar ile toksikokinetik ve toksikodinamikteki bireyler arası değişkenliği ele almak için genellikle az veri varken, bu tür bilgilerin kullanılabilirliğinin, uygun doğasına ilişkin daha iyi ortak bir anlayışla artması beklenmektedir.

(IPCS, 2001). Kullanılabilecek TK bilgisinin türü, emilim hızı ve kapsamını, sistemik yararlanımın kapsamını, sistemik öncesi (ilk geçiş) ve sistemik metabolizmanın hızı ve kapsamını, karaciğer dışı tekrar dolaşımın kapsamını, reaktif metabolitlerin oluşumuyla ilgili bilgileri ve olası tür farklılıkları ile yarı ömür ve tekrarlı maruz kalma altında birikim potansiyeli hakkında bilgileri içerir.

Bu ekstrapolasyonlara duyulan ihtiyaç, fizyolojik TK modellerinin deneysel modellere tercih edilmesine yol açabilir (Davidson ve ark., 1986; Watanabe ve Bois, 1996; Young ve ark., 2001). Aslında, PBK modelleri gerekli ekstrapolasyonları (türler arası, gönüllüler arası vb.) kolaylaştırır. Anatomik parametreleri (organ hacimleri veya kan akışları gibi) değiştirerek, PBK modeli, örneğin sıçandan insana aktarılabilir.

Türler arası ekstrapolasyon

Toksikolojik risk değerlendirmesi için hayvan verilerinin kullanımı, deneysel olarak gözlemlenen kinetiğin insan gönüllülere veya nüfuslara nasıl ekstrapole edilebileceği sorusunu ortaya çıkarır - hayvanlardan alınan verileri insanlardan verilerle karşılaştırma yeteneği, varsayılan değerlerin yerini alacak kimyasala özel türler arası ekstrapolasyon faktörlerinin tanımlanmasını sağlayacaktır. . Bunu yapmanın bir yolu, farklı vücut boyutlarına dayalı ekstrapolasyon yoluyla allometrik faktörlerin hesaplanmasıdır. Türler arası ekstrapolasyon için en karmaşık prosedür, farklı verilerin toplanması ve bunların bir PBK modellemesinde kullanılmasıdır.

Allometrik ölçekleme, yaygın olarak kullanılan bir ekstrapolasyon yaklaşımıdır. Biyolojik çeşitliliğin büyük ölçüde vücut büyüklüğü ile açıklandığı ilkesine dayanmaktadır (Schneider ve ark., 2004). Allometrik ölçekleme, fizyolojik parametrelerin veya TK ile vücut boyutunun ilişkilerini yakalar. Daha kesin olarak, allometrik denklemler ilgili miktarı (örneğin, bir doku dozu), türler arasında oluşturulan vücut kütlelerinin bir kuvvet fonksiyonuyla ilişkilendirir:

$$Y = a BM^b$$

burada Y ilgili miktar, a türden bağımsız ölçekleme katsayısı³⁴, BM vücut kütlesi ve b allometrik kuvvettir. b değerleri, ilgili miktarın yaklaşık olarak vücut kütlesi ($b = 1$), metabolik hız³⁵ ($b=0.75$) veya vücut yüzey alanı ($b=0.67$ ³⁶) ile ölçeklenip ölçeklenmediğine bağlıdır (Davidson ve ark., 1986; Fiserova-Bergerova ve Hugues, 1983; West ve ark., 1997). Uygulaması kolay olduğu için, allometrik ölçekleme muhtemelen türler arası ekstrapolasyona en uygun yaklaşımdır. Ancak, oldukça yaklaşıktır ve ilgili madde için yeterli yakınlık sağlamayabilir. Bu nedenle, yalnızca ilgili türde belirli verilerin yokluğunda kullanılacak varsayılan yaklaşım olarak düşünülebilir.

Hayvan deneylerinde toksisite açısından önemli türler arası değişkenlik gösteren bir madde için, en hassas türler genellikle bu ekstrapolasyon için referans olarak kullanılır. 1000 veya üzerindeki belirsizlik faktörleri, ilgili belirsizliğin dikkate alınması için uygulanmıştır. Bu şekilde tahmin edilen bir metabolik hız sabiti bir PBK modelinde kullanılabilirken, mümkün olduğunda, doku alt hücresel oranlar kullanılarak bu tür parametrelerin *in vitro* olarak belirlenmesi veya uygun bir veri setine bir PBK modeli uydurarak bunların tahmin edilmesi tercih edilir.

Sonuç olarak, türler arasında doku maruz kalmasını daha iyi tahmin etmek amacıyla, PBK modelleri, ilgili toksik madde için kullanılabilir (Watanabe ve Bois, 1996). Bu modeller vücuttaki taşıma mekanizmalarını ve metabolizmayı hesaba katar. Bu süreçler daha sonra dikkate alınan tüm türler için aynı denklem seti ile modellenir. Türler arasındaki farklılıkların, farklı (fizyolojik, kimyasal ve metabolik) parametre değerlerinden kaynaklandığı varsayılmaktadır. PBK modellerinin ekstrapolasyonu, sonrasında bir türün model parametre değerlerinin yerini ilgili türün parametre değerleriyle almasına dayanır.

³⁴ Uygun bir eğri oluşturmak için tekli veri noktalarını bir araya getirir.

³⁵ Bu bağlamda bileşiklerin metabolizması değil! Faktör, farklı oksijen tüketimi seviyelerini uyarlar.

³⁶ Bu ölçekleme faktörü, genellikle, çeşitli antineoplastik ilaçların toksisitesindeki türler arası farklılıkları inceleyen Freireich ve ark. (1966) çalışmalarına dayanılarak doğrulanır.

Fizyolojik parametreler için, çok sayıda referans (Arms ve Travis, 1988; Brown ve ark., 1997; ICRP, 2002) birçok tür için standart parametre değerleri verir. Kimyasal (dağılım katsayısı) ve metabolik parametre değerleri genellikle daha az kolay bulunur. PBK modelinin parametre değerleri ilgili türler için bilinmediğinde, *in vitro* verilere başvurmak, Nicel Yapı-Özellik İlişkileri (QSPR) tahminleri veya bu parametrelerin allometrik ölçeklemesi hala mümkündür. Ekstrapolasyon sürecindeki nüfus değişkenliğini hesaba katmak için, tekli parametre değerleri yerine parametrelerin olasılık dağılımları kullanılabilir. PBK modelleri, verilerin az bilginin mevcut olduğu nüfus alt gruplarına (örn. hamile kadınlar veya bebekler üzerinde) ekstrapole edildiği durumlarda özellikle yararlı olabilir (Luecke ve ark., 1994; Young ve ark., 2001).

Yollar Arası Ekstrapolasyon

Yoldan yola ekstrapolasyon, başka bir yolla uygulanan bir maddenin belirli bir miktarı için elde edilenle aynı sistemik toksik cevabı üretecek olan, bir yoldan uygulanan bir maddenin toplam miktarının tahmini olarak tanımlanır.

Genel olarak, yoldan yola ekstrapolasyonun, uygun maruz kalma yolu kullanılarak elde edilen toksisite verilerinin yerine geçemeyeceği düşünülmektedir. Ekstrapolasyondaki belirsizlikler, insan maruz kalma yoluna karşılık gelmeyen bir uygulama yolu ile elde edilen toksisite verileriyle bir risk değerlendirmesi yapmak gerektiğinde artar. Yoldan yola ekstrapolasyon için mevcut metodolojilerin güvenilirliğine ilişkin anlayış henüz elde edilmemiştir (Wilschut ve ark., 1998).

Yoldan yola ekstrapolasyon kullanılacağı zaman, aşağıdaki hususlar dikkatlice dikkate alınmalıdır:

- *etkinin doğası*: yoldan yola ekstrapolasyon yalnızca sistemik etkilerin değerlendirilmesi için uygulanabilir. Tekrarlı maruz kalmadan sonra lokal etkilerin değerlendirilmesi için, yalnızca söz konusu yolla yapılan toksisite çalışmalarından elde edilen sonuçlar kullanılabilir;
- *toksikokinetik veriler (ADME)*: Maruz kalma yolundan kaynaklanan toksisite farklılıklarından sorumlu ana faktörler şunları içerir:
- biyoyararlanım veya emilimdeki farklılıklar,
- metabolizmadaki farklılıklar (ilk geçiş etkileri),
- dahili maruz kalma modelindeki (yani dahili doz) farklılıklar.

İlgili kinetik verilerin yokluğunda, yoldan yola ekstrapolasyon ancak aşağıdaki varsayımlar makulse mümkündür:

- Emilim ölçülebilirse

- Toksikite, lokal olmayan, sistemik bir etkiyse (bileşik vücut sıvılarında nispeten çözünür, bu nedenle sistemik olarak biyoyararlanımlı) ve dahili doz tahmin edilebilirse³⁷
- İlk geçiş etkileri minimummsa

Listelenen kriterlerin karşılanması koşuluyla, yoldan yola ekstrapolasyon için tek olasılık varsayılan değerleri kullanmaktır. Yoldan yola ekstrapolasyon gerekiyorsa veya farklı yollardan birleşik maruz kalmayı değerlendirmek için dahili bir N(O)AEL/başlangıç noktasının türetilmesi gerekiyorsa, farklı maruz kalma yolları için emilim kapsamına ilişkin bilgiler başlangıç noktasını değiştirmek için kullanılmalıdır. Durum bazında, deneysel emilim verilerinden belirlenen farklı maruz kalma yollarına ilişkin emilim kapsamının ilgili başlangıç noktasına uygulanabilir olup olmadığına dair bir yargıya varılması gerekecektir. Başlangıç noktasını belirlemek için kullanılan doz aralıklarına (örn. çok daha düşük doz seviyeleri, özellikle insan verileri durumunda) kıyasla emilim çalışmalarında kullanılan doz aralıklarına (örn. çok yüksek doz seviyeleri) özel dikkat gösterilmelidir. Başlangıç noktasını belirlemek için kullanılan hayvanların (örn. emzirme dönemindeki yavrular) yaşına kıyasla emilim çalışmalarında kullanılan hayvanların (örn. yetişkin hayvanlar) yaşı da dikkate alınmalıdır. Bir veya daha fazla uygulama yolu ile ilk geçiş metabolizmasına uğrayan maddeler için, sistemik öncesi metabolizmanın kapsamı ve sistemik yararlanım hakkındaki bilgiler de dikkate alınmalıdır. Bu, başlangıç noktasında ek bir değişikliğe yol açabilir.

Uygulamalarda, deri toksisitesi faktörlerinin yokluğunda, ABD Çevre Koruma Ajansı (2004), sistemik etkiler için yoldan yola (oral yoldan deri yoluna) ekstrapolasyonlar yapmak için basitleştirilmiş bir yaklaşım (paradigma) tasarlamıştır. Bu yaklaşım, deri maruz kalması değerlendirmesi için bir oral toksisite faktörünün uygulanabilirliğini uzlaştırabilecek bir dizi faktöre tabidir. Toksikite faktörünü uygulanan dozdan emilen doza ayarlamak için oral emilim etkinliğinin tahmini belirsizlik getirir. Bu belirsizliğin bir bölümü, emilim ve biyoyararlanım terimleri arasındaki farklarla ilgilidir. Tipik olarak, emilim terimi maddenin sindirim sistemi lümeninden kaybolmasına atıfta bulunurken, oral biyoyararlanım, sistemik dolaşıma değişmeden ulaşan maddenin hızı ve miktarı olarak tanımlanır. Yani, biyoyararlanım hem emilim hem de sistemik öncesi metabolizmaya karşılık gelir. Sistemik öncesi metabolizma hem bağırsak duvarını hem de karaciğer metabolizmasını içermesine rağmen, büyük oranda ana rolü oynayan karaciğer ilk geçiş etkisidir.

Metabolik aktivasyon veya detoksifikasyonun yokluğunda, toksisite ayarlaması emilimden ziyade biyoyararlanıma dayanmalıdır çünkü deri yolunda sistemik dolaşıma giren ana bileşiğin miktarının tahmin edilmesi amaçlanır. Oral emilim etkinliğine dayalı olarak oral toksisite faktörünün basit şekilde ayarlanması, bağırsak duvarında meydana gelebilecek ancak ciltte oluşmayacak metabolik yan ürünleri hesaba katmaz, ya da tam tersine, bağırsak duvarında değil deride oluşabilecek yan ürünleri hesaba katmaz.

³⁷ Sistemik etkilerin lokal etkilere ikincil olmaması sağlanmalıdır. Örneğin bir maddeyle deri teması aynı zamanda, alerjik kontakt dermatit, kimyasal tahriş veya cilt kanseri gibi doğrudan deri toksisitesine de yol açabilir - erken aşamada sistemik cevaplara yol açabilecek ve sonuç olarak bu şekilde yanlış yorumlanabilecek etkilerdir.

İlk geçiş metabolizmasının verimliliği, yoldan yola ekstrapolasyon üzerindeki etkiyi belirler. Ayarlanmış dermal toksisite faktörü, toksik metabolit yerine sistemik dolaşımdaki ana bileşiğin miktarına bağlı olacağından gerçek doz-cevap ilişkisini olduğundan fazla tahmin edebilir. İlave olarak, deri boyunca (perkütan) emilim, toksik metaboliti sindirim kanalı yoluyla aynı hız ve ölçüde üretmeyebilir.

Uygulamada, (1) kritik çalışmadan elde edilen toksisite değerinin, çalışma tasarımında uygulanan bir doza (örn., beslenme veya gavaj yoluyla uygulama) dayanması; (2) bilimsel olarak savunulabilir bir veri tabanının, söz konusu maddenin kritik çalışmada kullanılabilecek benzer bir ortamdan (örneğin su, yem) sindirim yoluyla emiliminin %100'den önemli ölçüde daha az olduğunu (örneğin < %50) göstermesi koşulları karşılandığında oral toksisite faktöründe bir ayarlama (deri maruz kalması yolunda emilen dozu hesaba katmak için) önerilir. Emilim çalışmalarının analizindeki içsel değişkenliği yansıtmak için %50 sindirim yolu emilimi eşik seviyesi tavsiye edilir. Böylelikle, bu eşik seviyesi toksisite değerinde nispeten küçük ayarlamalar yapma ihtiyacını ortadan kaldırır, aksi takdirde sürece bilimsel literatür tarafından desteklenmeyen bir doğruluk seviyesi kazandırır.

Bu koşullar karşılanmazsa, varsayılan bir tam (yani, %100) oral emilim değeri varsayılabilir, böylece oral toksisite değeri ayarlaması ihtiyacı ortadan kaldırılır. Belirsizlik Analizi, oral emilim varsayılan değerinin kullanılmasının, büyüklüğü söz konusu maddenin gerçek oral emilimiyle ters orantılı olan şekilde, riskin olduğundan az tahmin edilmesiyle sonuçlanabileceğini belirtebilir.

Bir maddenin kinetik davranışının bir maruz kalma yolundan diğerine ekstrapolasyonu, PBK modelleri kullanılarak da gerçekleştirilebilir. Bu ekstrapolasyon prosedürü, ilgili maruz kalma yollarını temsil etmek için uygun model denklemlerinin dahil edilmesine dayanmaktadır. Madde sistemik dolaşıma ulaştığında, biyolojik dağılımının maruz kalma yolundan bağımsız olduğu varsayılır. Her bir maruz kalma yolunu temsil etmek için tipik olarak farklı denklemler (veya modeller) kullanılır. Bir maddeye oral maruz kalma, birinci dereceden veya sıfırıncı dereceden alım hızı sabiti eklenerek modellenenebilir. Deri emilimini temsil etmek için, yayılımla sınırlı dağılım modeli cildi bir giriş yolu olarak temsil edebilir. Solunum yolu genellikle basit bir pulmoner dağılım ile temsil edilir ve alım, hava üzerinden kan dağılım katsayısı ile kontrol edilir. Maddelerin sistemik dolaşıma yola özel girişini açıklayan denklemler modele dahil edildikten sonra, toksikokinetik ve doz ölçümlerinin ekstrapolasyonlarını yapmak mümkündür.

Sonuç olarak, yoldan yola ekstrapolasyon, belirtilen ön koşullar karşılandığı sürece değerlendirme faktörlerinin uygulanmasını takip edebilir. Herhangi bir özel TK bilgisi, bu tür faktörlerin uygulanmasının ihtiyati işlevini karşılamak için değerlendirme faktörünü iyileştirebilir.

Bölüm R.7.12 Ekleri

Ek R.7.12-1	Toksikokinetik - Fizyolojik Faktörler
Ek R.7.12-2 tahmini	<i>İn silico</i> ve <i>in vitro</i> oluşturulan bilgileri birleştiren toksikokinetik tahmini
Ek R.7.12-3	PBK Modellemesi ve Değerlendirme Faktörlerinin Geliştirilmesi
Ek R.7.12-4	Deri emilimi yüzdesi†

Ek R.7.12-1 Toksikokinetik - Fizyolojik Faktörler

Bu envanter, toksikokinetik verileri yorumlamak için yararlı olabilecek, çeşitli türler için fizyolojik parametreler hakkında bir bilgi kaynağı sağlamak için derlenmiştir. Liste kapsamlı değildir ve diğer uzman incelemesinden geçmiş kaynaklardan gelen veriler kullanılabilir. Çalışmaya özel veriler mevcutsa, bu, varsayılan verilere tercih edilerek kullanılmalıdır.

Zwart ve ark. (1999), ksenobiyotiklerin farmakokinetiği ve toksikolojisi üzerine yapılan çalışmalarda kullanılan çeşitli türler arasındaki anatomik ve fizyolojik farklılıkları incelemiştir. Bu yazarlar tarafından sunulan ve AB risk değerlendirmesi bağlamında ilgili olabilecek verilerin bir kısmı aşağıda alıntılanmıştır. Tablolar, Zwart ve ark. (1999) kaynağından uyarlanmıştır.

Ancak yazarlar, oral uygulama yoluna odaklanır ve diğer yollarla ilgili verilerin eklenmesi gerekebilir. Bunların bazıları, tekrarlı doz toksisitesi bölümünde zaten alıntılanmıştır ve bu nedenle burada tekrarlanmamaktadır.

Mide pH değerlerine ilişkin veriler

Midede dikkate alınması gereken nitel hususlar

Kemirgenler, insanlarda eşdeğeri olmayan glandüler (bezel) olmayan bir ön mideye sahiptir. İnce cidarlı ve şeffaftır. Glandüler olmayan midede pH tipik olarak glandüler kısımdakinden daha yüksektir ve daha fazla mikroorganizma içerir. Glandüler mide, insan midesine benzer mide bezlerine sahiptir, ancak toplam kemirgen midesinin nispeten küçük bir parçasıdır. Farklı türler için mide pH'ına ilişkin veriler nadirdir ve çoğu nispeten eski kaynaklardan gelmektedir.

Tablo R.7.12—7 Farklı türler için mide pH seviyesine ilişkin veriler

	İnsan	Hint şebegi	Sıçan	Fare	Tavşan	Köpek	Domuz
Medyan							2.7 (3.75-4)
Medyan ön kısım	2.7 (1.8-4.5)	4.8	5.0	4.5	1.9	5.5	4.3
Medyan arka kısım	1.9 (1.6-2.6)	2.8	3.0	3.1	1.9	3.4	2.2
Aç bırakılmış	1.7 (1.4-2.1)					1.5	1.6-1.8 (0.8-3.0)
Beslenmiş	5.0 (4.3-5.4)					2.1± 0.1 ¹⁾	<2 ²⁾

1) Standart sapma

2) Sadece bir hayvana ait veriler

Bağırsak pH seviyesi ve geçiş süreleri ile ilgili veriler

Tablo R.7.12—8 Bağırsak pH seviyesi ile ilgili veriler

pH (aç)	İnsan	Sıçan (Wistar)	Tavşan	Köpek	Domuz	Maymun
Bağırsak		6.5-7.1	6.5-7.1	6.2-7.5	6.0-7.5	5.6-9
Duodenum	5-7	6.9 ¹		4.5-7.5	7.2	
Jejunum	6-7					
İleum	7-8					
Jejunum/ileum		7.8 ¹				
Çekum	5.9	6.8	6.6	6.4	6.3	5.0
Kolon	5.5-7	6.6, 7.1 ¹	7.2	6.5	6.8	5.1
Rektum	7					

1) Beslenmiş durumda

Tablo R.7.12—9 Bağırsakta hesaplanan geçiş süreleri

Geçiş süresi (saat)	İnsan	Sıçan	Tavşan	Köpek
ince bağırsak	2.7 ila 5 ¹ Çocuk (yaş 8 ila 14): 5.1-9.2	1.5		0.5-2
Kolon	Çocuk (yaş 8 ila 14): 6.2-54.7	6.0-7.2	3.8	

1) Aç karnına veya hafif bir yemekten sonra, çeşitli yazarlardan

Soluma için fizyolojik parametreler

Tablo R.7.12—10 Sıçan, insan ve maymunların üst solunum yollarına ilişkin fizyolojik parametrelerin karşılaştırılması

Tür	vücut ağırlığı (kg)	Vücut yüzey alanı (m ²)	Burun boşluğu hacmi (cm ³)	Burun boşluğu yüzey alanı (cm ²)	Bağlı burun yüzey alanı	Yutak yüzey alanı (cm ²)	Gırtlak yüzey alanı (cm ²)	Trake yüzey alanı (cm ²)	Solunan Nefes/ havanın dakika hacmi (cm ³)	Nefes/ dakika (l/dk)	Dakika da hacim
İnsan	70	1.85	25	160	6.4	46.6	29.5	82.5	750-800	12-15	9-12
Hint şebeği	7	0.35	8	62	7.75	-	-	-	70	34	2.4
Sıçan	0.25	0.045	0.26	13.44	51.7	1.2	0.17	3	2	120	0.24

(De Sesso, 1993 kaynağından)

Maruz kalma faktörleri el kitabında ABD Çevre Koruma Ajansı (1997), farklı yaş grupları ve aktiviteler için soluma hızları üzerine bir dizi çalışmayı incelemiştir. Aktivite seviyeleri istirahat, oturarak/uzanarak, hafif, orta ve ağır olarak kategorize edilmiştir. ABD EPA belgesinde ayrıntılı olarak incelenen çalışmalara dayanarak, bir dizi tavsiye edilen soluma hızı türetilmiştir. Verilerde bir yanlılık açıkça belirtilmiştir, incelenen çalışmaların çoğu Los Angeles bölgesi ile sınırlıdır ve bu nedenle genel ABD nüfusunu temsil etmeyebilir. Bu verileri Avrupa bağlamında kullanırken de bu akılda tutulmalıdır. Önerilen değerler, çeşitli çalışmalardan her nüfus ve aktivite düzeyi için soluma hızlarının (aritmetik ortalama) ortalaması alınarak hesaplanmıştır. Veri setlerindeki sınırlamalar nedeniyle, üst yüzdelik dilim önerilmemektedir. Önerilen değerler aşağıda verilmiştir:

Tablo R.7.12—11 ABD EPA (1997) kaynağından önerilen değerlerin özeti

Nüfus	Ortalama nefes hızı [m ³ /24 saat]
Uzun süreli maruz kalma	
<1 yaş bebekler ¹⁾	4.5
1-2 yaş çocuklar ¹⁾	6.8
3-5 yaş ¹⁾	8.3
6-8 yaş ¹⁾	10
9-11 yaş erkek	14
kadın	13
12-14 yaş erkek	15
kadın	12

Nüfus	Ortalama nefes hızı [m ³ /24 saat]
15-18 yaş erkek	17
kadın	12
19 – 65+ yaş yetişkinler	15.2
erkek	11.3
kadın	
Kısa süreli maruz kalma	m³/saat
Çocuklar	
İstirahat	0.3
Oturarak/uzanarak aktivite	0.4
Hafif aktivite	1.0
Orta aktivite	1.2
Ağır aktivite	1.9
Yetişkinler	
İstirahat	0.4
Oturarak/uzanarak aktivite	0.5
Hafif aktivite	1.0
Orta aktivite	1.6
Ağır aktivite	3.2
Dış ortamda çalışanlar	
Saatlik ortalama	1.3 (3.3 m ³ /saat) ²⁾
Yavaş aktivite	1.1
Orta aktivite	1.5
Ağır aktivite	2.5

1) Cinsiyet farkı bulunmamıştır

2) Üst yüzdeler dilim

Belgede ayrıca, alveolar nefes hızı kullanılarak bir endojen dozun hesaplanması için, yalnızca alveoller yoluyla birim zamanda içeri çekiş-dışarı veriş için mevcut hava miktarının hesaba katılması gerektiğinin dikkate alınması gerektiği belirtilmektedir; bu da toplam nefes havasının yaklaşık %70'ine karşılık gelir.

Bu, risk değerlendirmesinde de dikkate alınmalıdır.

Bir solunum yolu dozimetri modeli (ICRP66 modeli; Snipes ve ark., 1997) kullanarak erkek yetişkinler için solunum hızlarını hesaplanmıştır. Bu solunum hızlarına dayanarak, farklı nüfuslar için tahmini günlük solunum hacimleri türetilmiştir:

- Genel nüfus: 8 saat uyku, 8 saat oturma, 8 saat hafif aktivite: 19.9 m³
- Hafif işler: 8 saat uyku, 6.5 saat oturma, 8.5 saat hafif aktivite, 1 saat ağır aktivite:
22.85 m³
- Ağır işler: 8 saat uyku, 4 saat oturma, 10 saat hafif aktivite, 2 saat ağır aktivite:
26.76 m³

Aynı yazarlar ayrıca, insanlarda, yaklaşık 2.1 m³/saat (%60 burun, %40 ağız yoluyla) nefes hızında, burundan nefes alıp verme ile burun/ağızdan nefes almaya kadar solunum modelinin değiştiğinden bahsetmektedir. 5 m³/saat nefes hızında havanın yaklaşık %60'ı ağızdan ve %40'ı burundan solunmaktadır. Bununla birlikte, bu model hesaplamaları, ABD EPA (1992) tarafından incelenen deneysel verilere kıyasla nefes hızlarını olduğundan fazla tahmin ediyor gibi görünmektedir.

PBK modellemesinde kullanılan fizyolojik parametreler

PBK modelleme literatürü, doku dozlarını ve dağılımlarını hesaplamak için kullanılan bir dizi fizyolojik parametre de içerir. Brown ve ark. (1997), PBK modellerinde kullanılan ilgili fizyolojik parametrelerin bir incelemesini yayınlamıştır. Bu makale, ortak laboratuvar türleri ve insanlar için bir dizi fizyolojik parametreye ilişkin temsili ve biyolojik olarak makul değerler sağlar. ABD EPA için Arms ve Travis (1988) tarafından hazırlanan bir belgenin güncellemesini oluşturur ve ayrıca Davies ve Morris (1993) tarafından oluşturulan temsili fizyolojik parametre değerlerinin bir derlemesini eleştirel olarak analiz eder. Bu referanslar bu nedenle burada incelenmemiştir, ancak danışma amaçlı referans listesinde verilmiştir. Diğer yazarların aksine Brown ve ark. (1997), ayrıca, farklı çalışmalarda farklı parametreler için belirlenen ortalama değerler artı standart sapma ve/veya değer aralıklarını vererek, mümkün olan her yerde parametrelerin değişkenliğini değerlendirmeye çalışmaktadır. Sağlanan standart sapmalar, farklı çalışmalarda bildirilen ortalamaların standart sapmalarıdır, diğer bir deyişle, parametrelerin kendi bireyler arası değişkenliği değil, farklı çalışmalar arasındaki değişkenliğinin bir ölçüsüdür. Bu nedenle bu değişkenlik, numune alma hatası, laboratuvarlar arası değişkenlik, veri elde etme tekniklerindeki farklılıkları içerebilir. Yazarlar ayrıca belirli organlardaki dokular hakkında burada alıntı yapılmayacak bazı veriler de sağlar.

Tablo R.7.12—12 Vücut ağırlığının yüzdesi olarak organ ağırlıkları

(Brown ve ark. (1997) çalışmasından uyarlanmıştır) (Tipik olarak değerler kanı boşaltılan organların ağırlıklarını yansıtır)

Organ	Fare ortalama ± standart sapma	Fare aralığı	Sıçan ortalama ± standart sapma	Sıçan aralığı	Köpek ortalama ± standart sapma	Köpek aralığı	İnsan referans değeri ortalama ± standart sapma	İnsan aralığı
Yağ doku ¹		5-14 ^{1a)}		5.5-7 ^{1b)}			13.6 ± 5.3 ^{1c)} 21.3 ^{1d)} , 32.7 ^{1e)}	5.2-21.6 ^{1c)}
Böbrek üstü bezler	0.048 ²⁾		0.019 ± 0.007	0.01 - 0.031	0.009 ± 0.004	0.004 - 0.014	0.02 ³⁾	
Kemik	10.73 ± 0.53	10.16 - 11.2		5-7 ⁴⁾	8.10 ^{2,5)}		14.3 ³⁾	
Beyin	1.65 ± 0.26	1.35-2.03	0.57 ± 0.14	0.38 - 0.83	0.78 ± 0.16	0.43 - 0.86	2.00 ³⁾	
Mide	0.60 ²⁾		0.46 ± 0.06	0.40 - 0.60	0.79 ± 0.15	0.65 - 0.94	0.21 ³⁾	
İnce bağırsak	2.53 ²⁾		1.40 ± 0.39	0.99 - 1.93	2.22 ± 0.68	1.61 - 2.84	0.91 ³⁾	
Kalın bağırsak	1.09 ²⁾		0.84 ± 0.04	0.80-0.89	0.67 ± 0.03	0.65 - 0.69	0.53 ³⁾	
Kalp	0.50 ± 0.07	0.40-0.60	0.33 ± 0.04	0.27 - 0.40	0.78 ± 0.06	0.68 - 0.85	0.47 ³⁾	
Böbrekler	1.67 ± 0.17	1.35-1.88	0.73 ± 0.11	0.49 - 0.91	0.55 ± 0.07	0.47 - 0.70	0.44 ³⁾	
Karaciğer	5.49 ± 1.32	4.19-7.98	3.66 ± 0.65	2.14 - 5.16	3.29 ± 0.24	2.94 - 3.66	2.57 ³⁾	
Akciğerler	0.73 ± 0.08	0.66-0.86	0.50 ± 0.09	0.37 - 0.61	0.82 ± 0.13	0.62 - 1.07	0.76 ³⁾	
Kas	38.4 ± 1.81	35.77-39.90	40.43 ± 7.17	35.36 - 45.50	45.65 ± 5.54	35.20 - 53.50	40.00 ³⁾	
Pankreas	Güvenilir veri yok		0.32 ± 0.07	0.24 - 0.39	0.23 ± 0.06	0.19 - 0.30	0.14 ³⁾	

Organ	Fare ortalama \pm standart sapma	Fare aralığı	Sıçan ortalama \pm standart sapma	Sıçan aralığı	Köpek ortalama \pm standart sapma	Köpek aralığı	İnsan referans değeri ortalama \pm standart sapma	İnsan aralığı
Cilt	16.53 \pm 3.39	12.86-20.80	19.03 \pm 2.62	15.80 - 23.60	temsili değer yok		3.71 ³⁾ (3.1 dişi, 3.7 erkek) ³⁾	
Dalak	0.35 \pm 0.16	0.16 - 0.70	0.20 \pm 0.05	0.13 - 0.34	0.27 \pm 0.06	0.21 - 0.39	0.26 ³⁾	
Tiroid	veri yok		0.005 \pm 0.002	0.002 - 0.009	0.008 \pm 0.0005	0.0074 - 0.0081	0.03 ³⁾	

1) Çoğunlukla kesilip incelenebilir yağ dokusu olarak tanımlanır,

1a) Farelerde büyük ölçüde suş ve yaşa dayanır,

1b) Erkek Sprague Dawley sıçan denklemi: Yağ içeriği = 0.0199.vücut ağırlığı + 1.664, erkek F344 sıçanlar için: Yağ içeriği = 0.035.vücut ağırlığı + 0.205

1c) 30-60 yaş arası erkekler

1d) ICRP, 70 kg erkek için 1975 referans değeri,

1e) ICRP, 58 kg dişi için 1975 referans değeri

2) Sadece bir çalışma

3) ICRP, 1975 referans değeri

4) Yazarlar tarafından incelenen çalışmaların çoğunda

5) Melez köpekler

Çoğu organ için organ hacmini kütleden türetmek için makul olarak yoğunluk 1 değerinde varsayılabilir. Kemik iliği içermeyen kemiğin yoğunluğu 1.92 g/cm³'tür (Brown ve ark., 1997).

Brown ve ark. (1997) ayrıca en yaygın laboratuvar türleri ve insanlar için kalp debisi veya kan akışı/100 g doku ağırlığı yüzdesi olarak kalp debisi ve bölgesel kan akışı için değerler vermektedir. Kullanılan veriler, radyoaktif işaretli mikro küre tekniği kullanılarak anestezi uygulanmamış hayvanlardan elde edilmiştir. İnsanlar için, perfüzyonu ölçmek için çeşitli teknikler kullanan veriler derlenmiştir.

Tablo R.7.12–13 Farklı türler için kalp debisi (ml/dk)

(Brown ve ark. (1997) çalışmasından alınmıştır).

Fare ortalama ± standart sapma	Fare aralığı	Sıçan ortalama ± standart sapma	Sıçan aralığı	Köpek ortalama ± standart sapma	Köpek aralığı	İnsan referans değeri
13.98 ± 2.85	12 - 16	110.4 ± 15.60	84 - 134	2,936 ¹⁾	1,300 - 3,000 ¹⁾	5,200 ¹⁾

¹⁾ Sadece bir çalışma

Yazarlara göre, aynı çalışmada ölçülen doku ağırlıkları yerine varsayılan referans ağırlıkları kullanılırsa, kan akışının doku ağırlığı için normalize edilmiş birimler halinde verilmesi önemli hatalara neden olabilir.

Tablo R.7.12–14 Farklı türlerde bölgesel kan akışı dağılımı

(ml/dk/100 g doku) (Brown ve ark. (1997) çalışmasından alınmıştır)

Organ	Fare ortalama ± standart sapma	Fare aralığı	Sıçan ortalama ± standart sapma	Sıçan aralığı	Köpek ortalama ± standart sapma	Köpek aralığı
Yağ dokusu ¹			33 ± 5	18 - 48	14 ± 1	13 - 14
Böbrek üstü bezler			429 ± 90	246 - 772	311 ± 143	171 - 543
Kemik			24 ± 3	20 - 28	13 ± 1	12 - 13
Beyin	85 ± 1	84 - 85	110 ± 13	45 - 134	65 ± 4	59 - 76
Kalp	781 ± 18	768 - 793	530 ± 46	405 - 717	79 ± 6	57 - 105
Böbrekler	439 ± 23	422 - 495	632 ± 44	422 - 826	406 ± 37	307 - 509
Karaciğer	131					
Hepatik arter	20		23 ± 44	9 - 48	21 ± 3	12 - 30
Kapı toplardamarı	111 ± 9	104 - 117	108 ± 17	67 - 162	52 ± 4	42 - 58
Akciğerler	35 ¹		127 ± 46 ¹⁾	38 - 147 ¹⁾	79 ± 43 ¹⁾	36 - 122
Kas	24 ± 6	20 - 28	29 ± 4	15 - 47	11 ± 2	6 - 18
Cilt	18 ± 12	9 - 26	13 ± 4	6 - 22	9 ± 1	8 - 13

¹⁾ Bronşiyal akış

²⁾ Hayvan çalışmalarına dayanır

Tablo R.7.12—15 Farklı türlerde bölgesel kan akışı dağılımı

(% kalp debisi) (Brown ve ark. (1997) çalışmasından alınmıştır).

Organ	Fare ortalama ± standart sapma	Fare aralığı	Sıçan ortalama ± standart sapma	Sıçan aralığı	Köpek ortalama ± standart sapma	İnsan referans değeri ortalama, erkek	İnsan referans değeri ortalama, , kadın	İnsan aralığı
Yağ dokusu ¹⁾			7.0 ²⁾			5.0	8.5	3.7- 11.8
Böbrek üstü bezler			0.3±0.1	0.2-0.3	0.2 ²⁾	0.3	0.3 ²⁾	
Kemik			12.2 ²⁾			5.0	5.0	2.5-4.7
Beyin	3.3±0.3	3.1-3.5	2.0±0.3	1.5-2.6	2.0 ²⁾	12.0	12.0	8.6- 20.4
Kalp	6.6±0.9	5.9-7.2	4.9±0.1	4.5-5.1	4.6 ²⁾	4.0	5.0	3.0-8.0
Böbrekler	9.1±2.9	7.0- 11.1	14.1±1.9	9.5- 19.0	17.3 ²⁾	19.0	17.0	12.2- 22.9
Karaciğer	16.2		17.4	13.1- 22.1	29.7 ²⁾	25.0	27.0	11-34.2
Hepatik arter	2.0		2.4	0.8-5.8	4.6 ²⁾			
Kapı toplardamarı	14.1	13.9- 14.2	15.1	11.1- 17.8	25.1 ²⁾	19.0	21.0	12.4- 28.0
Akciğerler	0.5 ¹⁾		2.1±0.4 ¹⁾	1.1-3.0 ¹⁾	8.8 ^{1,2)}	2.5 ¹⁾		
Kas	15.9±5.2	12.2- 19.6	27.8 ²⁾		21.7 ²⁾	17.0	12.0	5.7- 42.2
Cilt	5.8±3.5	3.3-8-3	5.8 ²⁾		6.0 ²⁾	5.0	5.0	3.3-8.6

1) Bronşiyal akış

2) Sadece bir çalışma

Karaciğer gibi bazı organlara kan akışı oldukça değişkendir ve anestezi, duruş, gıda alımı, egzersiz gibi faktörlerden etkilenebilir.

Gerlowski ve Jain (1983), diğer literatür kaynaklarından belirli bir vücut ağırlığındaki bir dizi tür için farklı organ hacimleri ve plazma akışlarının bir derlemesini yayınlamıştır.

Tablo R.7.12—16 Organ hacimleri, PBK modellerinde kullanılan plazma akışı

Parametre	Fare	Hamster	Sıçan	Tavşan	Maymun	Köpek	İnsan
Vücut ağırlığı (g)	22	150	500	2,330	5,000	12,000	70,000
Hacim (ml)							
Plazma	1	6.48	19.6	70	220	500	3.000
Kas	10	-	245	1,350	2,500	5,530	35,000
Böbrek	0.34	1.36	3.65	15	30	60	280
Karaciğer	1.3	6.89	19.55	100	135	480	1,350
Bağırsak	1.5	12.23	11.25	120	230	480	2,100
Bağırsak lümeni	1.5	-	8.8	-	230	-	2,100
Kalp	0.095	0.63	1.15	6	17	120	300
Akciğerler	0.12	0.74	2.1	17	-	120	-
Dalak	0.1	0.54	1.3	1	-	36	160
Yağ	-	-	34,9	-	-	-	10,000
İlik	0.6	-	-	47	135	120	1,400
İdrar kesesi	-	-	1.05	-	-	-	-
Beyin	-	-	-	-	-	-	1,500
Pankreas	-	-	2.15	-	-	24	-
Prostat	-	-	6.4	-	-	-	-
Tiroid	-	-	0.85	-	-	-	20
Plazma akış (ml/dk)							
Plazma	4.38	40.34	84.6	520	379	512	3,670
Kas	0.5	-	22.4	155	50	138	420
Böbrek	0.8	5.27	12.8	80	74	90	700
Karaciğer	1.1	6.5	4.7	177	92	60	800
Bağırsak	0.9	5.3	14.6	111	75	81.5	700
Kalp	0.28	0.14	1.6	16	65	60	150
Akciğerler	4.38	28.4	2.25	520	-	512	-

Parametre	Fare	Hamster	Sıçan	Tavşan	Maymun	Köpek	İnsan
Dalak	0.05	0.25	0.95	9	-	13.5	240
Yağ	-	-	3.6	-	-	-	200
İlik	0.17	-	-	11	23	20	120
İdrar kesesi	-	-	1.0	-	-	-	-
Beyin	-	-	0.95	-	-	-	380
Pankreas	-	-	1.1	-	-	21.3	-
Prostat	-	-	0.5	-	-	-	-
Tiroid	-	-	0.8	-	-	-	20

Tablo R.7.12–17 Farklı türler için bir dizi fizyolojik parametre

Nau ve Scott (1987) tarafından derlenmiştir

Parametre	Fare	Sıçan	Gine domuzu	Tavşan	Köpek	Maymun	İnsan
Safra akışı (günde ml/kg)	100	90	230	120	12	25	5
İdrar akışı (günde ml/kg)	50	200		60	30	75	20
Kalp debisi (kg başına ml/dk)	300	200		150	100	80-300	60-100
Hepatik kan akışı (l/dk)	0.003	0.017	0.021	0.12	0.68	0.25	1.8
Hepatik kan akışı (kg başına ml/dk)	120	100		50	25	25	25-30
Karaciğer ağırlığı (vücut ağırlığının yüzdesi)	5.1	4.0	4.6	4.8	2.9	3.3	2.4
Böbrek kan akışı (kg başına ml/dk)	30				22	25	17
Glomerüler filtrasyon (kg başına ml/dk)	5				3.2	3	1.3

Gad ve Chengelis (1992), farklı türler için bir dizi fizyolojik parametre özetlemiştir. En yaygın laboratuvar test türlerinin en önemli verileri aşağıda özetlenmiştir.

Tablo R.7.12—18 Farklı türler için bir dizi fizyolojik parametre

(Blaauboer ve ark., 1996)

	Sıçan	Fare	Gine domuzu	Tavşan	Köpek (Beagle)
Kan hacmi tam kan (ml/kg)	57.5 – 69.9	78	75	45 - 70	-
Kan hacmi Plazma (ml/kg)	36.3 – 45.3	45	30.6 – 38.2	-	-
Solunum sıklığı dk ⁻¹	66 - 114	84 - 230	69 - 160	35 - 65	10 - 30 ¹
solunan havanın hacmi (ml)	0.6 – 1.25	0.09 - 0.38	1.8	4 - 6	18 - 35 ¹
İdrar hacmi (ml/kg/24 saat)	55			20 - 350	-
İdrar pH seviyesi	7.3 – 8.5	-	-	8.2	-

1) 6,8 ila 11,5 kg vücut ağırlığına sahip Beagle köpeklerde

Ek R.7.12-2 *İn silico* ve *in vitro* oluşturulan bilgileri birleştiren toksikokinetik tahmini

Bu ekte sunulan yöntemler, toksikokinetikte *in silico* ve/veya *in vitro* yöntemlerin gelecekte kullanımını göstermek içindir. Farmasötik araştırma alanında ümit verici olmakla birlikte, verilen örneklerin çoğu, bu alanın dışında kullanım amacıyla tam olarak doğrulanmamıştır. Bu yaklaşımların daha da geliştirilmesi ve doğrulanması devam etmektedir.

Hayvanlarda veya insanda farmakokinetiğin tahmin edilmesine yönelik teknikler, ilaç endüstrisinde, araştırma ve geliştirmenin çeşitli aşamalarında uzun yıllardır kullanılmaktadır. İlaç adaylarının emilimini, dağılımını, metabolizmasını ve atılımını tahmin etmek için araçlar geliştirmeye önemli miktarda çalışma ayrılmıştır. İlaç geliştirmedeki amaç, amaçlanan uygulama yolu tarafından zayıf bir şekilde emilmesi, istenmeyen yollarla metabolize edilmesi, çok hızlı veya çok yavaş giderilmesi gibi istenmeyen özelliklere sahip olduğu tahmin edilen aday ilaçları mümkün olan en kısa sürede elemektir. Bu tahminler, mevcut tüm kanıtları kullanarak ve basit deneylerden ilave anlamlı bilgiler üreterek ilaç geliştirmenin çeşitli aşamalarında yapılır. Bu teknikler özellikle ilaç geliştirme bağlamında geliştirilmiş olsa da, maddelerin güvenlik değerlendirmesi için bunları kullanmamak için bir neden yoktur. Üretilen toksikokinetik bilgiler özellikle daha fazla geliştirilecek maddeleri seçmek, daha ileri testleri yönlendirmek ve deneysel tasarıma yardımcı olmak için kullanılabilir, böylece maliyet, zaman ve hayvan kullanımı açısından deneysel çabalardan tasarruf sağlar.

Uygulamalarda, bir maddenin toksikokinetik davranışının tahmini, uygun modellerin, esasen fizyolojik tabanlı ortamsal farmakokinetik modellerin, ilgili model parametreleri için tahmin oluşturmayla birleştirilmiş kullanımına dayanır. Emilim, metabolik klirens, dağılım ve boşaltımı tahmin etmek için kullanılan parametre değerlerini tahmin etmek üzere *in silico* modeller veya *in vitro* teknikler geliştirilmiştir. Blaauboer ve ark. (1996; 2002), fizyolojik tabanlı kinetik modelleri kullanarak toksikokinetik tahminle ilgili teknikleri incelemiştir. Risk değerlendirmesinde fizyolojik tabanlı farmakokinetik modellerin uygulanabilirliğine ilişkin kapsamlı tartışma IPCS (2010) tarafından sağlanmıştır. Ayrıca, emilim, dağılım, metabolizma ve boşaltımı tahmin etmek için kullanılan *in silico* yöntemlere ilişkin genel bir tartışma Boobis ve ark. tarafından sağlanmıştır. (2002).

Modelleri kullanan tüm tahminlerde olduğu gibi, bu yaklaşımlar, tahminin amacına göre dengelenmesi gereken, yapılan tahminlere eşlik eden belirsizlik ile birlikte düşünülmelidir. Yapılan tahminlerin *in vivo* deneysel olarak doğrulanması ve kullanılan modellerin iyileştirilmesi genellikle gereklidir (Parrott ve ark., 2005; ABD EPA, 2007) ve durum bazında dikkatlice planlanmalıdır. İlaç geliştirme sırasında rutin olarak üretilen tahmin edilen ve deneysel kinetik bilgileri birleştirmek için bir strateji Theil ve ark. (2003), Parrot ve ark. (2005) ve Jones ve ark. (2006) tarafından açıklanmıştır. Bu yazarlar tarafından sunulan ilkeler, risk değerlendirme sürecinin en başından itibaren mevcut kinetik veya kinetik olarak ilgili bilgilerin birleştirilmesine izin verdiklerinden, kimyasal güvenlik alanındaki kinetik temsili ve tahminiyle ilgilidir.

Geliştirmenin en ilk aşamalarında, temsiller *in silico* modellerden (QSAR/QSPR) türetilen fiziko-kimyasal özelliklerin yalnızca kullanılmasıyla oluşturulabilir.

Jones ve ark. (2006) tarafından önerilen strateji, incelenen bileşik setinde, bileşiklerin yaklaşık %70'i için insandaki farmakokinetiğin makul ölçüde doğru tahminiyle sonuçlanmıştır. Yazarlara göre, *bu başarılı tahminler başlıca olarak karaciğer metabolizması veya böbrek yoluyla boşaltımla temizlenen ve emilimi ve dağılımı pasif süreçler tarafından yönetilen bileşikler için elde edilmiştir. Diğer eliminasyon süreçleri (örn. biliyer eliminasyon) veya aktif süreçler söz konusu olduğunda veya akış sınırlı dağılım varsayımları ve iyi karıştırılmış ortamlar geçerli olmadığında önemli ölçüde yanlış tahminlere ulaşılmıştır.*

Ana bileşiğe ek olarak, bazı durumlarda, metabolitler genel maruz kalma-cevap ilişkisine önemli ölçüde veya hatta ağırlıklı olarak katkıda bulunur. Bu gibi durumlarda, ana bileşiğe maruz kaldıktan sonra metabolit kinetiğinin nicel *ex vivo* tahmini güçtür. Sonrasında ilgili metabolitlerin ayrı bir çalışma programı gerekli hale gelebilir.

Emilim/biyoyararlanımı tahmin etmek için kullanılan modeller

Sindirim yolu emilim modelleri

Sindirim yolundan emilmeleri için, maddelerin sindirim sıvılarında çözelti içinde bulunması ve buradan da lenf veya venöz portal kana ulaşmak için sindirim duvarını geçmesi gerekir. Bu nedenle sindirim yolu emiliminin temel belirleyicileri şunlardır:

- katı formlardan veya taneciklerden çözeltiye salım (çözünme),
- sindirim sıvılarında çözünürlük ve
- sindirim duvarı boyunca dolaşım sistemine geçirgenlik.

Dokoumetzidis ve ark. (2005), sindirim sisteminin karmaşık ortamında yer alan ilaç emilim süreçlerinin modellenmesinde iki ana yaklaşımı birbirinden ayırmaktadır.

İlk yaklaşım, gözlenen profillerin basit diferansiyel veya cebirsel denklemler kullanılarak basitleştirilmiş açıklamasıdır. Bu temelde, farmasötik maddeler için basit bir sınıflandırma olan, çözünürlük ve bağırsak geçirgenliği hususlarına dayanan Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS), Amidon ve ark. (1995) tarafından geliştirilmiştir. BCS, farmasötik maddeleri yüksek veya düşük çözünürlüklerine ve yüksek veya düşük bağırsak geçirgenliklerine göre 4 sınıfa ayırır ve FDA rehberine dahil edilmiştir (2000).

İkinci yaklaşım, her iki ortamsal analizi kullanarak bağırsak lümeninde gerçekleşen işlemlerin karmaşıklığını daha ayrıntılı olarak içeren modeller oluşturmaya çalışır (birden fazla diferansiyel denklem sistemleri (Agoram ve ark., 2001; Yu ve ark., 1996; Yu ve Amidon, 1999), kısmi diferansiyel denklemler ile dağılım sistemleri (Ni ve ark., 1980; Willmann ve ark., 2003 ve 2004) veya Monte Carlo temsilleri (Kalampokis ve ark., 1999)). Bu yaklaşımlardan bazıları ticari bilgisayar yazılımlarına dahil edilmiştir (Coecke ve ark., 2006; Parrott ve Lave, 2002) veya müşterileri için tahminler oluşturmak üzere sözleşmeli araştırma kuruluşları tarafından kullanılmaktadır.

Bu modellerin çekici bir özelliği, iyonlaşmayı, çözünürlüğü ve geçirgenliği açıklayan basit bir parametre seti kullanarak, verilerin yetersiz olduğu durumlarda, yani veri üretiminin ilk aşamasında, bir kapsam tahmini ve çoğu zaman emilim hızı üretme yetenekleridir.

Emilim tahminini potansiyel olarak karmaşıklaştıran faktörler şunlardır:

- emilim için mevcut miktarı azaltabilen veya toksikolojik ve toksikokinetik özellikler açısından dikkate alınması gereken metabolitler üreten bozunma veya metabolizma, matris etkileri, kimyasal türleşme gibi lümen içi olgular;
- benzer sonuçlara sahip olabilen bağırsak duvarı metabolizması;
- sindirim duvarının madde için geçirgenliğini azaltabilen bağırsak taşıyıcıları (atım (efluks) pompaları).

Bu faktörler, duruma göre dikkate alınmalı ve emilim/biyoyararlanım modellerine dahil edilmelidir.

Sindirim yolu emilimi modelleri için parametre tahmini

Emilim parametrelerini oluşturmak için kullanılan *in vitro* yaklaşımlarla ilgili bir tartışma Pelkonen ve ark. (2001) kaynağında bulunabilir.

İlgili olduğu durumlarda, yani katı partiküllerden çözünmenin sindirim yolu emilimi için sınırlayıcı faktör olabileceği durumlarda, çözünme hızı parametreleri için tahminler deneysel olarak *in vitro* veya bir QSAR / QSPR yaklaşımı kullanılarak elde edilebilir (örneğin Zhao ve ark., 2002).

Çözünmeden önceki potansiyel olarak hız sınırlayıcı adımlar (örneğin, daha büyük katı formların ayrıştırılması) genellikle farmasötik alanda kimyasal güvenlik değerlendirmesinden daha büyük ölçüde incelenir, çünkü bunlar formülasyon teknikleriyle manipüle edilebilir. Bununla birlikte, çözünme öncesi olaylar, hızını veya kapsamını etkileyerek maddelerin emiliminde belirleyici bir role sahip olabilir.

Çözünürlük parametreleri deneysel olarak veya QSAR/QSPR modelleri kullanılarak tahmin edilebilir. *İn silico* modellere ilişkin bir tartışma Stenberg ve ark. (2002) kaynağında bulunabilir.

Geçirgenlik tahminleri şu yollarla elde edilebilir:

- *in silico* modellerde (QSAR/QSPR);
- lipid zarlar (ör. PAMPA) boyunca veya kültürlenmiş epitel hücrelerinin (ör. CaCO-2 hücreleri, MDCK hücreleri) tek bir katmanı boyunca *in vitro* geçirgenlik çalışmaları;
- kesilerek çıkarılmış insan veya hayvan bağırsak dokularını kullanan *in vitro* geçirgenlik çalışmaları;
- hayvanlarda veya insanlarda *in vivo* bağırsak perfüzyon deneyleri.

Bağırsak geçirgenliğini tahmin etmek için çeşitli *in silico* ve *in vitro* yöntemlerin tartışması Stenberg ve ark. (2002), Artursson ve ark. (2001), Tavelin ve ark. (2002), Matsson ve ark. (2005) kaynaklarında bulunabilir.

Deri yolu

Sağlam deriden perkütan (deri boyunca) emilim, büyük ölçüde maddelerin fiziko-kimyasal özelliklerine ve özellikle moleküler ağırlık ve lipofilikliğe bağlıdır.

Belirli bir moleküler ağırlığın üzerindeki moleküllerin sağlam deriyi geçmesi olası değildir ve çok lipofilik veya çok hidrofilik olan maddeler düşük bir deri nüfuzu gösterir. 500 değerinde bir molekül ağırlığındaki eşik noktaları ve -1'in altında veya 4'ün üzerindeki log P değerleri, %10 deri emiliminde koruyucu bir varsayılan emilim faktörü ayarlamak için kullanılmıştır (EC, 2007). Bununla birlikte, bunun varsayılan bir faktör olduğu ve hiçbir şekilde deri emiliminin nicel bir tahmini olmadığı vurgulanmalıdır.

Fiziko-kimyasal özelliklerden deri emiliminin derecesini tahmin etmek için öngörücü modeller geliştirilmiştir (Cleek ve Bunge, 1993). Bir *in vitro* yöntem geliştirilmiş ve onaylanmıştır ve B.45³⁸ veya OECD Test Rehberi 428'de açıklanmıştır.

AB tarafından oluşturulan, Toksik Kimyasalların Deri Emiliminin Değerlendirilmesi ve Tahmin Edilmesi (EDETÖX) projesi, maddelerin deriye emilimi/nüfuzu hakkında *in vivo* ve *in vitro* verilerle eleştirel olarak değerlendirilmiş büyük bir veritabanı oluşturmuştur. Veriler, mevcut nicel yapı aktivite ilişkilerini değerlendirmek ve mekanik tabanlı matematiksel bir model, basit bir zar modeli ve deri boyunca emilim kinetiğinin bir yayılım modeli dahil olmak üzere yeni modeller geliştirmek için kullanılmıştır. Deri yoluyla emilim/nüfuz etme ile ilgili *in vitro* çalışmaların yürütülmesi için bir rehber doküman geliştirilmiştir. Veritabanı, model ve rehber dokümanlar hakkında daha fazla bilgi <http://www.ncl.ac.uk/edetox/> adresinde bulunabilir.

Soluma yolu

Fizyolojik değerlerle (nefes hava akışı, kan akışı) birlikte, solunan uçucu bileşiklerin kana geçişini tahmin etmek için gereken anahtar parametre, kan/hava dağılım katsayısıdır (Blaauboer ve ark., 1996; Reddy ve ark., 2005). Kan/hava dağılım katsayılarının tahmin edilmesi veya ölçülmesine yönelik yöntemlere referanslar, diğer dağılım katsayılarının tartışılmasıyla birlikte aşağıda belirtilmiştir. Parametreler, venöz pulmoner kandaki, sistemik arteriyel kana asimile edilen ve dışarı verilen havadaki konsantrasyonları tahmin eden fizyolojik tabanlı modellere dahil edilir.

Soluma yoluyla emilimi diğer faktörler etkileyebilir. Örneğin, suda çözünürlük, sınırlayıcı bir faktör olabilecek mukus tabakasındaki çözünürlüğü belirler ve taneciklerin boyutları, tanecikli maddenin emilimi için anahtar bir faktördür.

Diğer yollar

Diğer yolların, örneğin ağız, burun veya göz mukozası yollarının, belirli durumlarda dikkate alınması gerekebilir.

Sistemik biyoyararlanım ve ilk geçiş hususları

Oral maruz kalmadan sonra sistemik biyoyararlanım, emilim sürecinin birikerek artan etkilerinin ve emilen dozun bir kısmının portal kandan karaciğer tarafından olası şekilde özütlenmesinin veya ilk geçiş etkisinin bir sonucudur. İlk geçiş etkisi, uygun şekilde tanımlanmış fizyolojik tabanlı toksikokinetik bir modele dahil edilebilir. Hem emilim hızı hem de içsel hepatik klirens (temizlenme, atılım) tahminleri kullanılarak, maddenin sistemik biyoyararlanımı tahmin edilebilir. Giriş noktasındaki metabolizma bağırsak duvarında da meydana gelebilir ve bu kinetik modellere dahil edilebilir.

³⁸ bkz. Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik.

Bununla birlikte, model doğrulama aşamasında, bağırsak duvarı metabolizmasını *in vivo* karaciğer metabolizmasından ayırmak genellikle zordur.

Benzer şekilde, epidermis veya dermiste metabolizma meydana gelebilir. Mevcut cilt emilimi testi (B.45³⁹, OECD Test Rehberi 428) kutanöz metabolizmayı hesaba katmamaktadır.

Deri metabolizmasını ve biyoyararlanımını deri yoluyla ölçmek için özel çalışmalar gerekli olabilir.

Bazı maddelerin pulmoner metabolizması mevcuttur (Borlak ve ark., 2005), ancak çok az maddenin nicel açıdan olarak önemli pulmoner ilk geçiş etkisine maruz kaldığı bildirilmiştir.

Dağılımı tahmin etmek için modeller

Kana bağlanma

Kan hücresine dağılım

Bileşiklerin kan hücrelerine ve özellikle kırmızı kan hücrelerine (RBC) dağılımı, kinetik modellemede dikkate alınması gereken önemli bir parametredir (Hinderling, 1997).

Nadir durumlarda lökositlere ve hatta trombositlere dağılım düşünülmelidir. Bu dağılımın önemli bir etkisi, bazı ilaçlar için (örn. klorokin) tanımlanmıştır (Hinderling, 1997).

Kan hücrelerine dağılım deneysel olarak *in vitro* şekilde ölçülebilir (Hinderling, 1997) veya fiziko-kimyasal özelliklere dayalı bir QSAR/QSPR yaklaşımı kullanılarak tahmin edilebilir.

Plazma proteinlerine bağlanma

Plazma proteinlerine bağlanma, fizyolojik tabanlı kinetik modellere dahil edilmesi gereken önemli bir parametredir, çünkü plazma proteinlerine bağlanma, önemli ölçüde dağılımı, metabolizmayı ve eliminasyonu etkileyebilir. Yüksek afiniteli plazma bağlanması genellikle dağılımı, metabolizmayı ve eliminasyonu kısıtlayacaktır. Bununla birlikte, bu hiçbir şekilde sistematik değildir, çünkü genel kinetik, ilgili tüm süreçlerin etkileşiminin bir fonksiyonudur. Dağılım plazma bileşenleri ve dokular için afinite arasındaki dengeye bağlı olacaktır ve çok yüksek bir iç klirense sahip bileşiklerin (yani çok etkili eliminasyon mekanizmaları) giderilmesi, plazma proteinlerine yüksek bağlanmayla hızlandırılacaktır, bu da kan ortamında klirense için daha fazla bileşiğin mevcut olmasına neden olacaktır.

Plazma proteinlerine bağlanma, bilinen konsantrasyonlardaki belirli proteinlerin çözeltileri veya plazma kullanılarak *in vitro* teknikler kullanımıyla ölçülür. En standart teknikler denge diyalizi ve ultrafiltrasyondur, ancak çok sayıda başka teknik açıklanmıştır. Daha detaylı bilgi ve referanslar Zini (1991) ve Roberts (2001) tarafından verilmektedir. QSAR/QSPR yöntemleri, protein bağlanma afinitesini tahmin etmek için de kullanılmıştır (örneğin, Colmenarejo, 2003).

³⁹ bkz. Test Yöntemleri Hakkında Yönetmelik.

Doku dağılımı

Kan akışıyla sınırlı dağılım

Fizyolojik tabanlı kinetik modellerde, kan ve doku arasındaki dağılımı tanımlayan en yaygın model kan akışıyla sınırlı dağılımdır, yani doku ile kan arasındaki dengeye kanın doku içinden geçiş süresi içinde ulaşılır. Bu modelde, anahtar parametreler dağılım katsayılarıdır. Dağılım katsayıları, kan, plazma veya plazma suyu olabilen bir referans sıvıya göre bileşiğin çeşitli dokular için bağıl afinitesini ifade eder. Doku/kan, doku/plazma ve doku/plazma suyu dağılım katsayıları, plazma proteinlerine bağlanma ve kan hücresi dağılımı yoluyla birbiriyle ilişkilidir. Dağılım katsayıları, kan ve doku konsantrasyonlarını tahmin eden diferansiyel denklemlere veya bileşiğin kararlı hal dağılım hacmini tahmin eden küresel modellerin denklemlerine bütünleştirilir (Poulin ve Theil, 2002).

Geçirgenlikle sınırlı dağılım

Bununla birlikte, bazı durumlarda, kan ve belirli bir doku arasındaki değişim yüzeyinin düşük geçirgenliği nedeniyle (örn. kan-beyin bariyeri, plasenta bariyeri), kan ve doku arasında dengeye kanın dokudan geçiş süresi içinde ulaşamamaktadır ve bu dokuya dağılımı tanımlayan diferansiyel denklemde bir düzeltme faktörü eklenmelidir. Bunu yapmanın yaygın ve basit bir yolu, geçirgenlik alanı çapraz çarpımını kullanmaktır. Böylelikle, dağılım bu durumda arteriyel konsantrasyon ve üç faktör kan akışı (fizyolojik parametre), yüzey birimi başına geçirgenlik (bileşiğe özgü parametre) ve değişim yüzeyi (fizyolojik parametre; bkz. Reddy ve ark., 2005) tarafından belirlenir. Geçirgenlikle sınırlı dağılım, gerekli parametreleri ölçmek için iyi bilinen, kullanımı kolay ve kapsamlı modellerin bulunmaması nedeniyle tahmini zorlaştırır.

Dağılım katsayılarının belirlenmesi

Kan/hava, doku/hava ve kan/doku dağılım katsayılarını elde etmek için mevcut deneysel yöntemler Krishnan ve Andersen (2001) tarafından tartışılmıştır. *İn vitro* yöntemler, şişe dengesini (uçucu bileşikler için), denge diyalizi ve ultrafiltrasyonu içerir. Bununla birlikte, bu yöntemler *ex-vivo* biyolojik malzeme gerektirir, zaman alıcıdır ve genellikle radyoaktif-ışaretleli bileşiğin kullanılmasını gerektirir (Blaauboer, 2002).

Basit fiziko-kimyasal özelliklerden tahmini doku/kan, doku/plazma veya doku/plazma su dağılım katsayılarını hesaplamak için modeller geliştirilmiştir (Poulin ve Theil, 2002; Rodgers ve ark., 2005 ve 2006). Gerekli bileşiğe özel girdi, kimyasal yapı ve işlevler (örn. nötr, asit, baz, zwitteriyonik), uygun olduğunda pKa değeri veya pKa değerleri ve pH 7.4'te oktanol-su dağılım katsayısı bilgisi ile sınırlıdır. İlave gerekli parametreler doku hacimlerini ve doku lipid bileşimini açıklar. Doku hacimleri genellikle mevcuttur veya literatürden tahmin edilebilir. Mevcut bilgilerden bazı makul tahminler yapılabilmesine rağmen, özellikle insanda kritik bağlanma bileşenleri açısından doku bileşimi hakkında daha az doğrudan veri mevcuttur.

Kan/hava ve doku/kan dağılım katsayılarının tahmini için geliştirilen QSAR/QSPR modelleri de raporlanmıştır (Blaauboer, 2002).

Metabolizma tahmini

Metabolizmanın birçok yönü *in vitro* yöntemler kullanılarak araştırılabilir ve sıklıkla araştırılmalıdır (Pelkonen ve ark., 2005).

In vitro yöntemlerle metabolizma çalışmasının ana hedefleri şunlardır:

- bir maddenin metabolizmaya hassasiyetinin belirlenmesi (metabolik kararlılığı);
- ilgili türlerde (insan dahil) kinetik ve toksikolojik olarak ilgili metabolitlerinin belirlenmesi;
- toksikokinetik modellere dahil edilmek üzere metabolik klirensinin küresel bir nicel tahmininin elde edilmesi.

Olası ilave hedefler şunlardır:

- yeni bir maddenin *in vivo* kinetiğini ölçeklendirmek ve tahmin etmek için de kullanılabilen temel metabolik reaksiyonların enzim kinetiğinin karakterize edilmesi;
- maddenin biyodönüşüme dahil olan farklı enzimler için bir substrat olarak hareket etme yeteneğinin tahmin edilmesi;
- metabolizmada türler arası farklılıkların araştırılması;
- belirli bir türdeki, özellikle insandaki metabolizmada potansiyel değişkenliğin değerlendirilmesi;
- maddenin ve/veya metabolitlerinin enzim indükleyici olarak hareket edip edemeyeceğinin belirlenmesi;
- maddenin ve/veya metabolitlerinin bir enzim inhibitörü olarak hareket edip edemeyeceğinin ve ilgili inhibisyon tipinin belirlenmesi.

Çoğu yöntem farmasötik alanda geliştirilmiştir ve sitokrom P izoformlarına (CYP) odaklanmıştır, çünkü bunlar ilaç metabolizmasında yer alan başlıca enzimlerdir. Mevcut yöntemlerin daha geniş bir kimyasal alana ve diğer oksitlenme yolları, asetilasyon, hidroliz gibi diğer enzimatik sistemlere genişletilmesi dikkatle yapılmalıdır ve yöntemler bu bağlamda gelişmelidir. Her durumda, *in vitro* metabolizma çalışması, maddelerin bütünleşik risk değerlendirmesinde genellikle önemli bir adımdır. Birçok durumda *in vitro* yöntemler, *in vivo* çalışmaların pratik olmaması veya tamamen imkansız olması nedeniyle metabolizmayı incelemek için tek seçenektir.

Metabolizmada farklı organların bağlı rolü

Nicel olarak, metabolizma için en önemli organ açık ara karaciğerdir, ancak diğer organların metabolizması nicel veya nitel olarak önemli olabilir. Metabolizma açısından hangi organların en uygun olduğunu değerlendirirken maddenin doğası ve uygulama yolu dikkate alınmalıdır (Coecke ve ark., 2006).

Metabolizmayı incelemek için *in vitro* yöntemler

Metabolizmayı ve özellikle bir maddenin hepatik metabolizmasını araştırmak için *in vitro* yöntemler Pelkonen ve ark. (2005) ve Coecke ve ark. (2006) tarafından tartışılmıştır.

Amaca bağlı olarak, kullanılan farklı metabolize edici materyaller, mikrozoimler ve mikrozoimal oranlar, rekombinant DNA ile ifade edilen bireysel CYP enzimleri, Ölümsüzleştirilmiş hücre hatları, kültür veya süspansiyon içindeki birincil hepatositler, karaciğer kesitleridir.

Bir maddenin içsel klirensinin (temizlenmesinin) nicel tahmini.

Bir maddenin toksikokinetiğini temsil etmek için en önemli bilgi parçalarından biri, kinetik modellere dahil edilmesi gereken *in vivo* içsel metabolik klirensdir. İçsel klirens, nicel *in vitro* sistemler (saflaştırılmış enzimler, mikrozoimler, hepatositler) kullanılarak ve sonuçların *in vivo* duruma ekstrapole edilmesiyle tahmin edilebilir.

Yalnızca bir veya birkaç konsantrasyon test edilirse, içsel klirens, olası doyumluk olgusu göz ardı edilerek yalnızca tek bir birinci dereceden eliminasyon parametresi olarak ifade edilebilir. İkincisi, yalnızca uygun şekilde seçilmiş bir sistemde yeterince geniş bir konsantrasyon aralığı test edilerek tespit edilebilir. Örneğin, bir Michaelis ve Menten modeli uygulanabilirse, sistemin V_{maks} ve K_m değeri bu şekilde belirlenebilir.

Özellikle önemli olanlar:

- metabolizma sisteminin kendisinin kalitesi ve karakterizasyonu;
- özellikle sistemin çalışılan maddeleri bağlama kapasitesi (Blanchard ve ark., 2005) açısından, ancak açık bir şekilde sıcaklık, pH, vb. gibi diğer parametrelerle ilgili olarak da deneysel koşulların kalitesi ve karakterizasyonu.
- *In vivo* tahmin edilen klirens değerlerine ekstrapolasyon için uygun ölçekleme faktörlerinin kullanılması.

Ölçekleme faktörleri, kullanılan *in vitro* sistem dikkate alınarak seçilmelidir. Özellikle metabolizma sistemi için mevcut (bağlanmamış) olan maddenin *in vitro* konsantrasyonu, *in vitro* sistemde bulunan enzimlerin doğası ve miktarı, *in vivo* hepatositlerdeki karşılık gelen enzim miktarı ve *in vivo* olarak karaciğerin tamamında aktif enzimin genel kütlesi hakkında bilgiler içerirler. Dikkate alınması gereken uygun ölçekleme prosedürleri ve faktörleri hakkındaki tartışmalar Houston ve Carlile (1997), Inoue ve ark. (2006), Shiran ve ark. (2006), Howgate ve ark. (2006), Johnson ve ark. (2005), Proctor ve ark. (2004) tarafından geliştirilmiştir.

Metabolik etkileşimler için *in vitro* tarama

İlaçlar için metabolik etkileşimlerin tahmini amacıyla *in vitro* tarama prosedürleri geliştirilmiştir. Yeni madde ile olan ve olmayan durumda iyi karakterize edilmiş bir dizi bileşik için bir *in vitro* metabolizma sisteminin test edilmesini içerirler (Blanchard ve ark., 2004; Turpeinen ve ark., 2005).

Boşaltım tahmini

En yaygın başlıca boşaltım yolları, renal atılım, safra atılımı ve uçucu bileşikler için, dışarı verilen hava yoluyla atılımdır.

Şu anda safra veya böbrek atılım parametrelerini güvenilir bir şekilde tahmin etmek için herhangi bir *in vitro* model bulunmamaktadır.

Belirleyici faktörler arasında moleküler ağırlık, lipofiliklik, iyonlaşma, kan bileşenlerine bağlanma ve aktif taşıyıcıların rolü yer alır. Özel önsel bilginin yokluğunda, birçok kinetik model metabolik olmayan klirensi tek bir birinci dereceden boşaltım hızı parametresi olarak içerir.

Solunan hava (nefes verilmesiyle klirens)

[Ek R.7.12-2](#) 'de açıklandığı gibi, solunan havaya boşaltım kan/hava dağılım katsayısı kullanılarak modellenir (Reddy ve ark., 2005).

Safra yoluyla klirens

Safra yoluyla (biliyer) boşaltım üzerine yapılan güncel çalışmalar, büyük ölçüde taşıyıcıların rolüne odaklanmaktadır (örn. Klaassen, 2002; Klaassen ve Slitt, 2005). Bununla birlikte, aktif taşımanın modellenmesine dahil edilecek parametreler için deneysel olarak belirlenmiş sayısal değerler büyük ölçüde eksiktir, bu nedenle bu mekanizmalar henüz anlamlı bir şekilde kinetik modellere dahil edilemez. Levine (1978), Rollins ve Klaassen (1979) ve Klaassen (1988), ksenobiyotiklerin safra yoluyla atılımına ilişkin klasik bilgileri gözden geçirmiştir. Doğrudan insanda safra atılımını incelemenin anatomik ve etik zorlukları göz önüne alındığında, insanlardaki bilgi hala nispeten azdır. Bileşikler safrada 1000 kata kadar yüksek bir oranda konsantre olabilir ve insanda safra akışı 0.5 ile 0.8 ml/dk arasında nispeten yüksektir, böylelikle birkaç yüz ml/dk gibi önemli safra klirensi değerleri elde edilebilir (Rowland ve Tozer, 1989; Rowland ve ark., 2004). Tahmin için kullanılan kinetik modellere safra atılımının ve olası entero-hepatik yeniden dolaşımın dahil edilip edilmeyeceği, durum bazında değerlendirilmelidir.

Böbrek klirensi

Sağlıklı bireylerde ve çoğu patolojik durumda, ksenobiyotiklerin böbrekle klirensi, endojen kreatinin klirensin ölçülmesi veya tahminiyle *in vivo* tahmin edilebilen glomerüler filtrasyon hızında yansıtılan küresel böbrek fonksiyonuyla orantılıdır. Böbrek klirensi için basit modeller, sadece bağlanmamış plazma oranının glomerüler filtrasyonunu dikkate alır. Ancak bu, aktif taşıma süreçleri söz konusu olduğunda önemli yanlış tahminlere yol açabilir. Ksenobiyotiklerin yeniden emilimini ve/veya aktif salgılanmasını içeren daha karmaşık modeller açıklanmıştır (Brightman ve ark., 2006; Katayama ve ark., 1990; Komiya, 1986 ve 1982), ancak bu tür modelleri uygulamak ve tahminlerini tatmin edici bir şekilde değerlendirmek için yeterli girdi veya referans verisi yoktur.

Kinetik modelleme programları

Toksikokinetik temsili veya tahmini için bir dizi program mevcuttur veya müşterilerinin bileşiklerini test etmek için sözleşmeli araştırma şirketleri tarafından kullanılmaktadır. Bu tür programların kapsamlı olmayan bir listesi Coecke ve ark., (2006) tarafından verilmiştir. Toksikokinetik tahmin için amaca yönelik olarak oluşturulmuş mevcut fizyolojik tabanlı modelleme programları şunları içerir (kapsamlı olmayan bir liste halinde verilmiştir):

- SimCYP® (SimCYP Ltd, www.simcyp.com);
- PK-Sim® (Bayer Technology Services GmbH, www.bayertechnology.com);
- GastroPlus™ (Simulations Plus Inc, www.simulations-plus.com);
- Cloe PK® (Cyprotex Plc, www.cyprotex.com);

- Noraymet ADME™ (Noray Bioinformatics, SL, www.noraybio.com).

PBK modellerini uygulamak için genel amaçlı veya daha özel olarak biyomatematik modelleme için tasarlanmış çok sayıda başka temsil (simülasyon) programları kullanılabilir. Bu konuyla ilgili bir tartışma ve kapsamlı olmayan bir liste Rowland ve ark. (2004) kaynağında bulunabilir.

Ek R.7.12-3 PBK Modellemesi ve Değerlendirme Faktörlerinin Geliştirilmesi

PBK modellemesini kullanarak türler arası farklılıklar için bir değerlendirme faktörünün geliştirilmesinin basit ama kurgusal bir örneği sunulmuştur. Kurgusal bir madde olan bileşik A, potansiyel merkezi sinir sistemi (MSS) baskılama özelliklerine sahip, düşük moleküler ağırlıklı, uçucu bir çözücüdür. İkinci belirtilenin kanıtı, bileşik A'ya soluma yoluyla maruz kalma sırasında ve sonrasında bir dizi nörodavranış testinin yapıldığı birden fazla kontrollü insan gönüllü çalışmasından gelmektedir.

Bileşik A, hem sıçan hem de insan hepatik mikrozomları tarafından faz I, karma işlevli oksidaz enzimi, sitokrom P450 2E1 (CYP2E1) tarafından *in vitro* olarak metabolize edilir. Ayrıca, bir CYP2E1 inhibitörü olan diallil sülfür ile ön muameleye tabi tutulmuş ve tutulmamış, bileşik A'ya soluma yoluyla maruz bırakılan sıçanlarda, bu enzim tarafından bileşik A'nın metabolizmasıyla tutarlı olan bazı *in vivo* veriler bulunmaktadır.

Soluma yoluyla bileşik A'ya maruz kalma için sıçan ve standart insan erkek veya kadın için PBK modelleri oluşturulmuştur. Sıçan modeli, sıçanların kapalı devridaim atmosferli bir maruz kalma odası içinde bir dizi başlangıç konsantrasyonuna maruz bırakılmasının ardından bileşik A'nın oda konsantrasyonlarında deneysel olarak belirlenen düşüşlerinin temsili ile doğrulanmıştır. Bileşik A'nın oda konsantrasyonunun zamanla giderimi, sıçan tarafından alınmaya ve temel olarak metabolizma yoluyla eliminasyona bağlıdır. İnsan PBK modeli, kontrollü atmosferli maruz kalma odasında sabit bir bileşik A konsantrasyonuna soluma yoluyla maruz bırakılan erkek ve kadın gönüllülerde bileşik A'nın deneysel olarak belirlenen venöz kan konsantrasyonlarının temsili ile doğrulanmıştır.

Madde için aşağıdakilerin tanımlandığı varsayılmaktadır: 1) maddenin aktif kısmı ve 2) ilgili doz-ölçüsü (yani, aktif kısmın uygun formu, örn., tepe plazma konsantrasyonu (C_{maks}), venöz kandaki ana maddenin eğrinin altındaki alanı (AUC_B), 24 saatte hedef dokuda metabolize edilen ortalama miktar (AM_{met}), hepatik metabolizma tepe hızı ($AM_{TepeMet}$, vb.). Bu durumda, bileşik A'nın tepe plazma konsantrasyonu C_{maks} değerinin, tersinir bir MSS baskılayıcı etkiye neden olduğu düşünülen bileşik A'nın MSS konsantrasyonları için en olası vekil doz ölçütü olduğu varsayılmaktadır. Bununla birlikte, C_{maks} , hepatik metabolizmanın tepe hızına ($AM_{TepeMet}$) bağlıdır. Bu nedenle, doğrulanmış sıçan ve insan PBK modelleri, nörodavranış testlerinin herhangi bir MSS baskılayıcı etki tespit etmediği insan çalışması maruz kalma süresini ve konsantrasyonlarını temsil etmek için çalıştırılmıştır. Sıçana ait doz ölçütü olan $AM_{TepeMet}$, insana ait $AM_{TepeMet}$ değerine bölünecektir. Bu oran, belirli bir sıçan suşu ile ortalama insan erkek veya kadın arasındaki farkın büyüklüğünü temsil edecektir. Bu değer, maddeye özel verilere dayandığından, daha sonra varsayılan türler arası kinetik değerini yerini alabilir. Bu nedenle, DNEL belirlemede uygun bir "değerlendirme faktörünün" türetilmesi, nicel ve mekanik veriler kullanılarak daha kolay gerçekleştirilebilir.

Ek R.7.12-4 Deri Emilimi Yüzdesi†

† *In vitro* verilerle birlikte *in vivo* sıçan çalışmalarına ve risk değerlendirmesine yönelik kademeli bir yaklaşım önerisine dayanmaktadır (Benford ve ark., 1999).

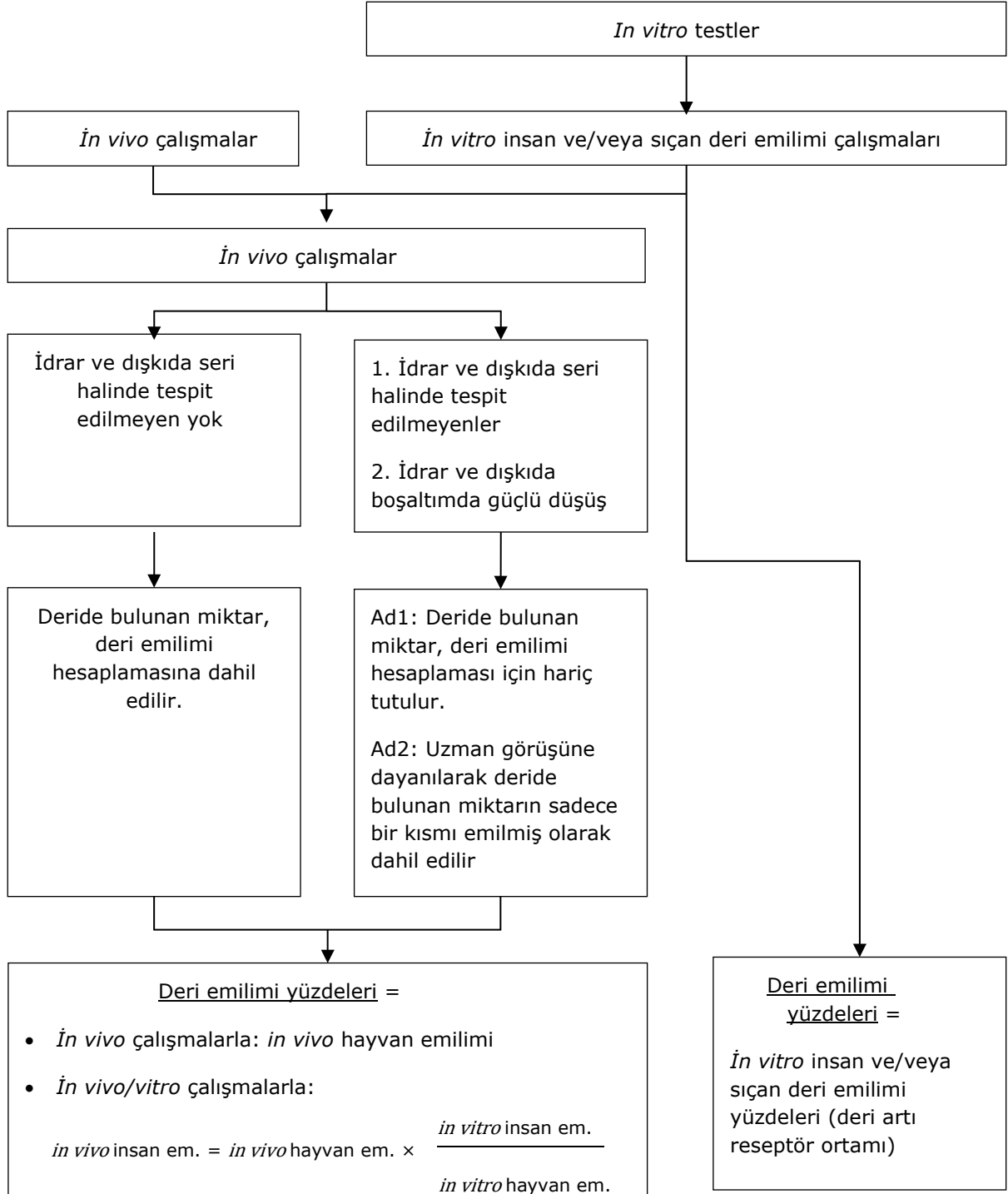
Deri Emilimi Yüzdesi tahmini. Sıçanlar için *in vivo* ve sıçan ve insan derisi için *in vitro* uygun deri nüfuzu verileri mevcutsa, sıçanlarda *in vivo* deri Emilimi, karşılaştırılabilir koşullar altında *in vitro* sıçan ve insan derisi yoluyla bağlı Emilim ışığında ayarlanabilir (bkz. aşağıdaki denklem ve [Şekil R.7.12-4](#)). İkinci ayarlama, insan derisinin geçirgenliğinin genellikle hayvan derisinin geçirgenliğinden daha düşük olması nedeniyle yapılabilir (örn. Howes ve ark., 1996). Bununla birlikte, insana ekstrapolasyon için genel olarak uygulanabilir bir düzeltme faktörü türetilemez, çünkü olduğundan fazla tahminin kapsamının doza, maddeye ve hayvana özel olduğu görünmektedir (ECETOC, 2003; Howes ve ark., 1996; Bronaugh ve Maibach, 1987). *In vitro* verilere dayalı düzeltme faktörü için tercihen maksimum akış değerleri kullanılmalıdır. Alternatif olarak, deri Emilimi Yüzdesi (reseptör ortamı artı cilt dozu) kullanılabilir. Bunun nedeni, tanımı gereği geçirgenlik sabiti (cm/saat cinsinden Kp) sonsuz doz seviyelerinde oluşturulduğundan, Kp değerinin deri risk değerlendirmesi için faydasının sınırlı olmasıdır.

$$\text{in vivo insan Emilimi} = \frac{\text{in vivo hayvan Emilimi} \times \text{in vitro insan Emilimi}}{\text{in vitro hayvan Emilimi}}$$

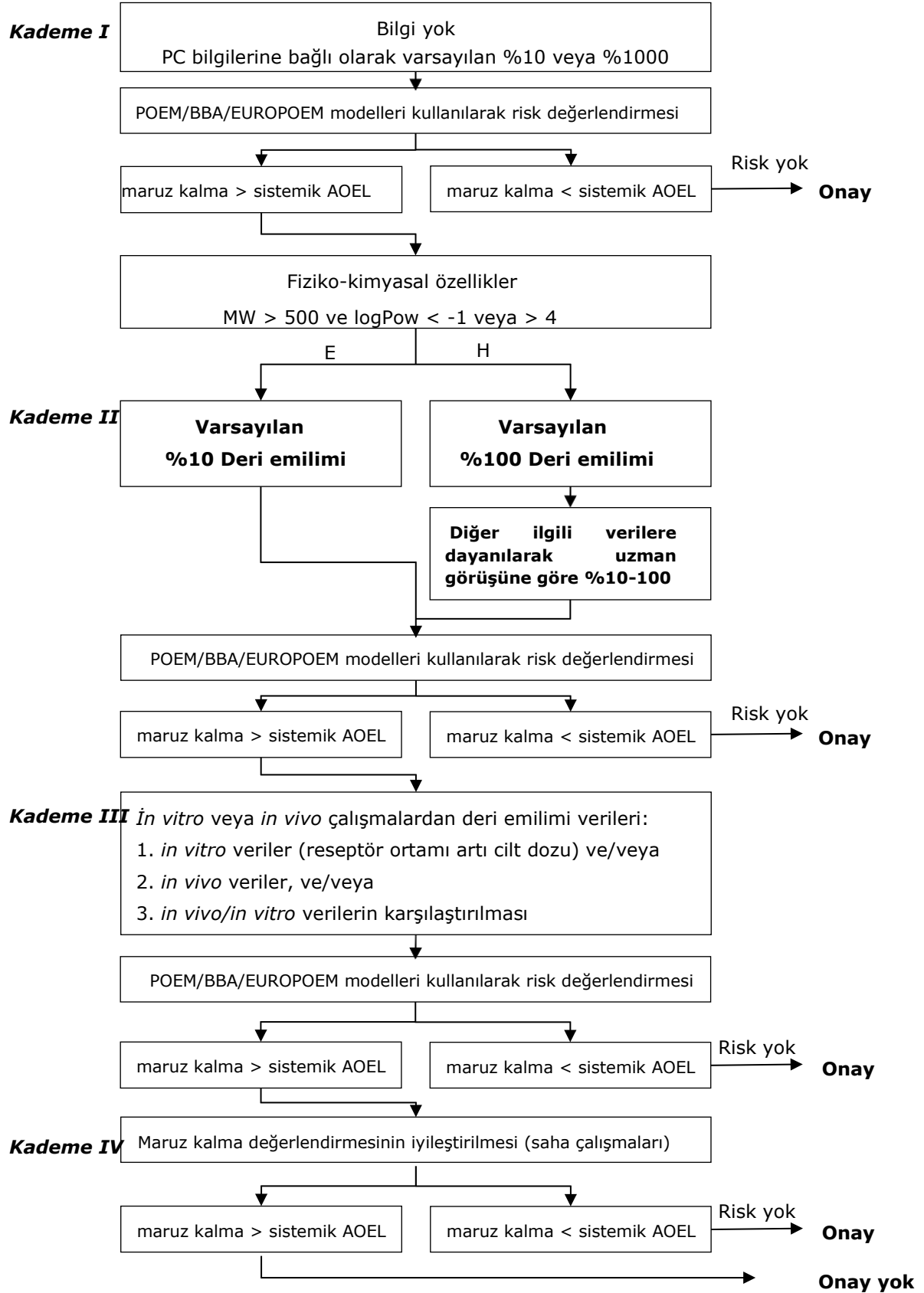
Formüller (formüle eklenen inert veya inaktif maddeler) arasındaki farklılıklar için benzer ayarlamalar yapılabilir (örn. sıçanda *in vivo* aktif madde ve formüller ve aktif maddeye ilişkin *in vitro* sıçan verileri)

Kademeli Risk Değerlendirmesi. Deri Emilimi için bir değer oluşturulması, en kötü durumdan daha iyileştirilmiş bir tahmine doğru kademeli bir yaklaşım kullanılarak gerçekleştirilebilir (bkz. [Şekil R.7.12-4](#)). İlk değerlendirme bir riskle sonuçlanırsa, deri Emilimi hakkında daha fazla bilgi sağlanırsa bir sonraki kademede daha fazla iyileştirme elde edilebilir. Risk değerlendirmesinin birinci kademesinde, %100'lük deri Emilimi için en kötü durum değeri, ilgili bilgilerin mevcut olmaması durumunda harici deri kalması için kullanılabilir (Benford ve ark., 1999). Maddeye ilişkin diğer ilgili veriler (örneğin, moleküler ağırlık, log P_{ow} ve oral Emilim verileri) (ikinci kademe) veya deneysel *in vitro* ve *in vivo* deri Emilimi verileri (üçüncü kademe, bkz. Bölüm [R.7.12.2.2](#)) dikkate alınarak deri Emilimi tahmini oluşturulabilir. Üçüncü kademenin sonunda hala bir risk hesaplanırsa, risk değerlendirmesi gerçek maruz kalma verileri (dördüncü kademe) aracılığıyla iyileştirilebilir ([Şekil R.7.12-4](#)). Bu yaklaşım, risk değerlendirmesi için bir araç sağlar ve genel olarak güvenli tarafta hata yapar.

Şekil R.7.12—4 Deri Emilimi yüzdesini ayarlamak için *in vitro* ve *in vivo* verilerin olası kullanımına genel bakış.



Şekil R.7.12—5 Operatör maruz kalması için risk değerlendirmesinde deri emilimi; kademeli bir yaklaşım



R.7.12.3 Toksikokinetik üzerine rehber için referanslar

ACGIH (2002) TLV ve BEI Kimyasal Maddeler ve Fiziksel Ajanlar için Eşik Sınır Değerleri. Cincinnati, ABD.

Agoram B, Woltosz WS ve Bolger MB (2001) Predicting the impact of physiological and biochemical processes on oral drug bioavailability (Fizyolojik ve biyokimyasal süreçlerin oral ilaç biyoyararlanımı üzerindeki etkisinin tahmini). Adv Drug Deliv Rev 50 Suppl 1:S41- S67.

Andersen ME (1995) Development of physiologically based pharmacokinetic and physiologically based pharmacodynamic models for applications in toxicology and risk assessment (Toksikoloji ve risk değerlendirmesinde uygulamalar için fizyolojik tabanlı farmakokinetik ve fizyolojik tabanlı farmakodinamik modellerin geliştirilmesi). Toxicol Lett 79:35-44.

Amidon GL, Lennernas H, Shah VP ve Crison JR (1995) A theoretical basis for a biopharmaceutic drug classification: the correlation of in vitro drug product dissolution and in vivo bioavailability (Biyofarmasötik bir ilaç sınıflandırması için teorik bir temel: in vitro ilaç ürünü çözünmesinin ve in vivo biyoyararlanımının ilişkisi). Pharm Res 12:413-20.

Arms AD ve Travis CC (1988) Farmakokinetik modellemede Referans Fizyolojik Parametreler. ABD Çevre Koruma Ajansı.

Aungst B ve Shen DD (1986) Gastrointestinal absorption of toxic agents (Toksik ajanların sindirim yolundan emilimi). Kaynak: Rozman KK ve Hanninen O (Ed.) Gastrointestinal Toxicology (Sindirim Yolu Toksikolojisi). Elsevier, New York, ABD.

Artursson P, Palm K ve Luthman K (2001) Caco-2 monolayers in experimental and theoretical predictions of drug transport (İlaç aktarımının deneysel ve teorik tahminlerinde Caco-2 tek tabakaları). Adv Drug Deliv Rev 46:27-43.

Bachmann K (1996) Scaling basic toxicokinetic parameters from rat to man (Temel toksikokinetik parametreleri sıçandan insana ölçekleme). Environ Health Persp 104:400-7.

Balant LP ve Gex-Fabry M (1990) Physiological pharmacokinetic modelling (Fizyolojik farmakokinetik modelleme). Xenobiotica 20:1241-57.

Benford DJ, Cocker J, Sartorelli P, Schneider T, van Hemmen J ve Firth JG (1999) Dermal route in systemic exposure (Sistemik maruz kalmada dermal yol). Scand J Work Environ Health 25:511-20.

Blaauboer BJ, Bayliss MK, Castell JV, Evelo CTA, Frazier JM, Groen K, Gulden M, Guillouzo A, Hissink AM, Houston JB, Johanson G, deJongh J, Kedderis GL, Reinhardt CA, van de Sandt JJ ve Semino G (1996) The use of biokinetics and in vitro methods in toxicological risk evaluation (Toksikolojik risk değerlendirmesinde biyokinetik ve in vitro yöntemlerin kullanılması). Altern Lab Anim 24:473-97.

Blaauboer BJ (2002) The necessity of biokinetic information in the interpretation of in vitro toxicity data (In vitro toksisite verilerinin yorumlanmasında biyokinetik bilginin gerekliliği). Altern Lab Anim 30 Suppl 2:85-91.

Blanchard N, Richert L, Coassolo P ve Lave T (2004) Qualitative and quantitative assessment of drug-drug interaction potential in man, based on K_i , IC_{50} and inhibitor concentration (K_i , IC_{50} ve inhibitör konsantrasyonuna dayalı olarak insanda ilaç-ilâç etkileşim potansiyelinin nitel ve nicel değerlendirmesi). Curr Drug Metab 5:147-56.

Blanchard N, Alexandre E, Abadie C, Lave T, Heyd B, Manton G, Jaeck D, Richert L ve Coassolo P (2005) Comparison of clearance predictions using primary cultures and suspensions of human hepatocytes (İnsan hepatositlerinin birincil kültürleri ve süspansiyonları kullanılarak klirens tahminlerinin karşılaştırılması). *Xenobiotica* 35:1-15.

Boobis A, Gundert-Remy U, Kremers P, Macheras P ve Pelkonen O (2002) In silico prediction of ADME and pharmacokinetics. Report of an expert meeting organised by COST B15 (ADME ve farmakokinetik in silico tahmini. COST B15 tarafından düzenlenen bir uzman toplantısının raporu). *Eur J Pharm Sci* 17:183-93.

Borlak J, Blickwede M, Hansen T, Koch W, Walles M ve Levsen K (2005) Metabolism of verapamil in cultures of rat alveolar epithelial cells and pharmacokinetics after administration by intravenous and inhalation routes (Sıçan alveolar epitel hücrelerinin kültürlerinde verapamil metabolizması ve damar içi ve soluma yoluyla uygulamadan sonra farmakokinetik). *Drug Metab Dispos* 33:1108-14.

Brightman FA, Leahy DE, Searle GE ve Thomas S (2006) Application of a generic physiologically based pharmacokinetic model to the estimation of xenobiotic levels in rat plasma (Sıçan plazmasındaki ksenobiyotik seviyelerin tahminine genel bir fizyolojik tabanlı farmakokinetik modelin uygulanması). *Drug Metab Dispos* 34:84-93.

Brightman FA, Leahy DE, Searle GE ve Thomas S (2006) Application of a generic physiologically based pharmacokinetic model to the estimation of xenobiotic levels in human plasma (İnsan plazmasındaki ksenobiyotik seviyelerin tahminine genel bir fizyolojik tabanlı farmakokinetik modelin uygulanması). *Drug Metab Dispos* 34:94-101.

Bronaugh RL ve Maibach HI (1987) In vitro percutaneous absorption (İn vitro deri boyunca emilim). Kaynak: Marzulli FN ve Maibach HI (Ed.) *Dermatotoxicology (Dermatotoksikoloji)*. Hemisphere Publishing, Washington DC, ABD, s.121-34.

Brown RP, Delp MD, Lindstedt SL, Rhomberg LR ve Beliles RP (1997) Physiological parameter values for physiologically based pharmacokinetic models (Fizyolojik tabanlı farmakokinetik modeller için fizyolojik parametre değerleri). *Toxicol Ind Health*, 13, 407-484.

Byczkowski JZ ve Lipscomb JC (2001) Physiologically based pharmacokinetic modeling of the lactational transfer of methylmercury (Metil cıvanın emzirme yoluyla aktarımının fizyolojik tabanlı farmakokinetik modellemesi). *Risk Anal* 21:869-82.

Cleek RL ve Bunge AL (1993) A new method for estimating dermal absorption from chemical exposure. 1. General approach (Kimyasal maruz kalmadan deri emilimini tahmin etmek için yeni bir yöntem. 1. Genel yaklaşım). *Pharm Res* 10:497-506.

Clewell HJ III ve Andersen ME (1996) Use of physiologically based pharmacokinetic modeling to investigate individual versus population risk (Bireysel riske karşı nüfus riskini araştırmak için fizyolojik tabanlı farmakokinetik modellemenin kullanımı). *Toxicology* 111:315-29.

Coecke S, Ahr H, Blaauboer BJ, Bremer S, Casati S, Castell J, Combes R, Corvi R, Crespi CL, Cunningham ML, Elaut G, Eletti B, Freidig A, Gennari A, Gherzi-Egea JF, Guillouzo A, Hartung T, Hoet P, Ingelman-Sundberg M, Munn S, Janssens W, Ladstetter B, Leahy D, Long A, Meneguz A, Monshouwer M, Morath S, Nagelkerke F, Pelkonen O, Ponti J, Prieto P, Richert L, Sabbioni E, Schaack B, Steiling W, Testai E, Vericat JA ve Worth A (2006) Metabolism: a bottleneck in in vitro toxicological test development. The report and recommendations of ECVAM workshop 54 (Metabolizma: in vitro toksikolojik test geliştirmede bir engel. ECVAM Çalıştay 54 rapor ve önerileri). *Altern Lab Anim* 34:49-84.

Colmenarejo G (2003) *In silico* prediction of drug-binding strengths to human serum albumin (İnsan serum albüminine ilaç bağlanma kuvvetlerinin *in silico* tahmini). Med Res Rev 23:275-301.

Corley RA, Mast TJ, Carney EW, Rogers JM ve Daston GP (2003) Evaluation of physiologically based models of pregnancy and lactation for their application in children's health risk assessments (Çocuk sağlığı risk değerlendirmelerindeki uygulamaları için fizyolojik tabanlı gebelik ve emzirme modellerinin değerlendirilmesi). Crit Rev Toxicol 33:137-211.

Csanady GA ve Filser JG (2001) The relevance of physical activity for the kinetics of inhaled gaseous substances (Solunan gaz halindeki maddelerin kinetiği için fiziksel aktivitenin önemi). Arch Toxicol 74:663-72.

Cuddihy RG ve Yeh HC (1988) Kaynak: Mohr V (Ed.) Inhalation Toxicology. The Design and Interpretation of inhalation Studies and their use in risk assessment (Solunma Toksikolojisi. Solunma Çalışmalarının Tasarımı ve Yorumlanması ve risk değerlendirmesinde kullanımı). Springer Verlag, New York, ABD.

Davidson IW, Parker JC ve Beliles RP (1986) Biological basis for extrapolation across mammalian species (Memeli türleri arasında ekstrapolasyon için biyolojik temel). Regul Toxicol Pharmacol 6:211-37.

Davies B ve Morris T (1993) Physiological parameters in laboratory animals and humans (Laboratuvar hayvanları ve insanlarda fizyolojik parametreler). Pharm Res 10:1093-5.

Dedrick RL ve Bischoff KB (1980) Species similarities in pharmacokinetics 6 (Farmakokinetikte tür benzerlikleri 6). Fed Proc 39:54-9.

De Heer C, Wilschut A, Stevenson H ve Hakkert BC (1999) Guidance document on the estimation of dermal absorption according to a tiered approach: an update (Kademeli bir yaklaşıma göre deri emilimi tahminine ilişkin rehber doküman: bir güncelleme). V98.1237. 1999. Zeist, NL, TNO.

De Sesso JM (1993) The relevance to humans in animal models for inhalation studies of cancer in the nose and upper airways (Burun ve üst solunum yollarındaki kanser solunma çalışmaları için hayvan modellerinde insanlarla ilişki). Qual Assur 2:213-31.

De Zwart LL, Rompelberg CJM, Snipes AJAM, Welink J ve van Engelen JGM (1999) Anatomical and Physiological differences between various Species used in Studies on the Pharmacokinetics and Toxicology of Xenobiotics (Ksenobiyotiklerin Farmakokinetiği ve Toksikolojisi Üzerine Çalışmalarda kullanılan çeşitli Türler arasındaki Anatomik ve Fizyolojik farklılıklar). 6233860010. Bilthoven, NL, RIVM.

Dokoumetzidis A, Kosmidis K, Argyrakis P ve Macheras P (2005) Modeling and Monte Carlo simulations in oral drug absorption (Oral ilaç emiliminde Modelleme ve Monte Carlo temsilleri). Basic Clin Pharmacol Toxicol 96:200-5.

D'Souza RW (1990) Modelling oral bioavailability: Implication for risk assessment (Oral biyoyararlanımı modelleme: Risk değerlendirmesi için çıkarım). Kaynak: Gerrity TR ve Henry CJ (Ed.). Principles of route-to-route extrapolation for risk assessment - proceedings of the workshop on principles of route-to-route extrapolation for risk assessment (Risk değerlendirmesi için yoldan yola ekstrapolasyon ilkeleri - risk değerlendirmesi için yoldan yola ekstrapolasyon ilkeleri üzerine çalıştayın bildirileri). Elsevier, New York, ABD.

EC (2007) Deri Emilimi hakkında Taslak Rehber Doküman. Avrupa Komisyonu, Sağlık ve Tüketicinin Korunması Genel Müdürlüğü.

ECETOC (1993) Perkütan Emilim. Monograf 20. Brüksel, ECETOC.

ECETOC (2006) Toksikolojik Etki Şekilleri: İnsan Risk Değerlendirmesi ile İlgili Düzeyi. 99. Brüksel, ECETOC. Teknik Rapor.

Elkins HB (1954) Analyses of biological materials as indices of exposure to organic solvents (Organik çözücülere maruz kalma göstergeleri olarak biyolojik materyallerin analizi). *AMA Arch Ind Hyg Occup Med* 9:212-22.

Faқи AS, Dalsenter PR, Merker HJ ve Chahoud I (1998) Reproductive toxicity and tissue concentrations of low doses of 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin in male offspring rats exposed throughout pregnancy and lactation (Gebelik ve emzirme boyunca maruz bırakılan erkek yavru sıçanlarda 2,3,7,8-tetraklorodibenzo-p-dioksinin düşük dozlarının üreme toksisitesi ve doku konsantrasyonları). *Toxicol Appl Pharmacol* 150:383-92.

FDA (2000) Endüstri Rehberi: Biyofarmasötikler sınıflandırma sistemine dayanan, çabuk salımlı katı oral dozaj formları için in vivo biyoyararlanım ve biyodeşdeğerlik çalışmalarından feragat. Washington DC, ABD, CDER/FDA.

Fitzpatrick D, Corish J ve Hayes B (2004) Modelling skin permeability in risk assessment - the future (Risk değerlendirmesinde deri geçirgenliğinin modellenmesi - gelecek). *Chemosphere* 55:1309-14.

Fiserova-Bergerova V ve Hugues HC (1983) Species differences on bioavailability of inhaled vapors and gases (Solunan buhar ve gazların biyoyararlanımına ilişkin tür farklılıkları). *Kaynak: Fiserova-Bergerova F (Ed.) Modeling of Inhalation Exposure to Vapors: Uptake, Distribution, and Elimination (Buharlara Solunma Yoluyla Maruz Kalmanın Modellenmesi: Alım, Dağılım ve Eliminasyon)*. CRC Press, Boca Raton, Florida, s.97-106.

Flynn GL (1985) Mechanism of percutaneous absorption from physico-chemical evidence (Fiziko-kimyasal kanıtlardan perkütan emilim mekanizması). *Kaynak: Bronough RL ve Maibach HI (Ed.) Percutaneous Absorption, Mechanisms- Methodology - Drug Delivery (Perkütan Emilim, Mekanizmalar - Metodoloji - İlaç Dağılımı)*. Marcel Dekker Inc., New York, ABD.

Freireich EJ, Gehan EA, Rall DP, Schmidt LH ve Skipper HE (1966) Quantitative comparison of toxicity of anticancer agents in mouse, rat, hamster, dog, monkey, and man (Fare, sıçan, hamster, köpek, maymun ve insanda antikanser ajanların toksisitesinin nicel karşılaştırması). *Cancer Chemother Rep* 50:219-44.

Gad SC ve Chengelis CP (1992) Animal models in Toxicology (Toksikolojide Hayvan Modelleri). Marcel Dekker Inc, New York, ABD.

Gargas ML, Tyler TR, Sweeney LM, Corley RA, Weitz KK, Mast TJ, Paustenbach DJ ve Hays SM (2000) A toxicokinetic study of inhaled ethylene glycol ethyl ether acetate and validation of a physiologically based pharmacokinetic model for rat and human (Solunan etilen glikol etil eter asetatın toksikokinetik çalışması ve sıçan ve insan için fizyolojik tabanlı farmakokinetik modelin doğrulanması). *Toxicol Appl Pharmacol* 165:63-73.

Gerlowski LE ve Jain RK (1983) Physiologically based pharmacokinetic modeling: principles and applications (Fizyolojik tabanlı farmakokinetik modelleme: ilkeler ve uygulamalar). *J Pharm Sci* 72:1103-27.

Gibaldi M ve Perrier D (1982) Farmakokinetik (Farmakokinetik). Marcel Dekker Inc., New York, ABD.

Gueorguieva I, Nestorov IA ve Rowland M (2006) Reducing whole body physiologically based pharmacokinetic models using global sensitivity analysis: diazepam case study (Global hassasiyet analizi kullanılarak tüm vücut fizyolojik tabanlı farmakokinetik modellerin azaltılması: diazepam vaka çalışması). *J Pharmacokinet Pharmacodyn* 33:1-27.

Gulden M ve Seibert H (2003) In vitro-in vivo extrapolation: estimation of human serum concentrations of chemicals equivalent to cytotoxic concentrations in vitro (İn vitrodan-in vivo'ya extrapolation: in vitro sitotoksik konsantrasyonlara eşdeğer kimyasalların insan serum konsantrasyonlarının tahmini). *Toxicology* 189:211-22.

Hinderling PH (1997) Red blood cells: a neglected compartment in pharmacokinetics and pharmacodynamics (Kırmızı kan hücreleri: farmakokinetik ve farmakodinamikte ihmal edilmiş bir ortam). *Pharmacol Rev* 49:279-95.

Hirom PC, Millburn P, Smith RL ve Williams RT (1972) Species variations in the threshold molecular-weight factor for the biliary excretion of organic anions (Organik anyonların biliyer atılımı için eşik değeri bulunan moleküler ağırlık faktöründeki tür değişkenlikleri). *Biochem J* 129:1071-7.

Hirom PC, Millburn P ve Smith RL (1976) Bile and urine as complementary pathways for the excretion of foreign organic compounds (Yabancı organik bileşiklerin atılımı için tamamlayıcı yollar olarak safra ve idrar). *Xenobiotica* 6:55-64.

Houston JB ve Carlile DJ (1997) Prediction of hepatic clearance from microsomes, hepatocytes, and liver slices (Mikrozomlardan, hepatositlerden ve karaciğer dilimlerinden hepatic klirensin tahmini). *Drug Metab Rev* 29:891-922.

Howes D, Guy RH, Hadgraft J, Heylings J, Hoeck U, Kemper F, Maibach HI, Marty JP, Merk H, Parra J, Rekkas D, Rondelli I, Schaefer H, Taeuber U ve Verbiee N (1996) Methods for assessing percutaneous absorption - Report and Recommendations of ECVAM Workshop 13 (Perkütan emilim değerlendirme yöntemleri - ECVAM Çalıştayı 13 Raporu ve Önerileri). *Altern Lab Anim* 24:81-106.

Howgate EM, Rowland YK, Proctor NJ, Tucker GT ve Rostami-Hodjegan A (2006) Prediction of in vivo drug clearance from in vitro data. I: impact of inter-individual variability (İn vitro verilerden in vivo ilaç klirensinin tahmini. I: bireyler arası değişkenliğin etkisi). *Xenobiotica* 36:473-97.

Hughes RD, Millburn P ve Williams RT (1973) Molecular weight as a factor in the excretion of monoquatarnary ammonium cations in the bile of the rat, rabbit and guinea pig (Sıçan, tavşan ve gine domuzu safrasında monokuaterner amonyum katyonlarının atılımında bir faktör olarak moleküler ağırlık). *Biochem J* 136:967-78.

Ings RM (1990) Interspecies scaling and comparisons in drug development and toxicokinetics (Türler arası ölçekleme ve ilaç geliştirme ve toksikokinetikte karşılaştırmalar). *Xenobiotica* 20:1201-31.

ICRP (2002) Radyolojik Korumada Kullanım için Temel Anatomik ve Fizyolojik veriler: Referans Değerler. Valentin, J. (32). Stockholm, İsveç, Pergamon. ICRP Yıllık Kayıtları.

Inoue S, Howgate EM, Rowland-Yeo K, Shimada T, Yamazaki H, Tucker GT ve Rostami-Hodjegan A (2006) Prediction of in vivo drug clearance from in vitro data. II: potential inter-ethnic differences (İn vitro verilerden in vivo ilaç klirensinin tahmini. II: potansiyel etnik gruplar arası farklılıklar). *Xenobiotica* 36:499-513.

IPCS (2001) Doz/konsantrasyon-cevap değerlendirmesinde türler arası farklılıklar ve insan değişkenliği için Kimyasal Özel Ayarlama Faktörlerinin (CSAF) geliştirilmesinde verilerin kullanımına ilişkin Rehber Doküman. UNEP, ILO WHO. WHO/PCS/01.4.

IPCS (2010) Risk değerlendirmesinde fizyolojik tabanlı farmakokinetik modellerin karakterizasyonu ve uygulaması. Uyumlaştırma Projesi Belge No. 9. WHO Press, Cenevre, İsviçre. ISBN 978-92-4-150090-6 (erişim adresi: <http://www.inchem.org/documents/harmproj/harmproj/harmproj9.pdf>)

Johnson TN, Tucker GT, Tanner MS ve Rostami-Hodjegan A (2005) Changes in liver volume from birth to adulthood: a meta-analysis (Doğumdan yetişkinliğe kadar karaciğer hacmindeki değişiklikler: bir meta-analiz). *Liver Transpl* 11:1481-93.

Jones HM, Parrott N, Jorga K ve Lave T (2006) A novel strategy for physiologically based predictions of human pharmacokinetics (İnsan farmakokinetiğinin fizyolojik tabanlı tahminleri için yeni bir strateji). *Clin Pharmacokinet* 45:511-42.

Kalampokis A, Argyrakis P ve Macheras P (1999) Heterogeneous tube model for the study of small intestinal transit flow (İnce bağırsak geçiş akışının incelenmesi için heterojen tüp modeli). *Pharm Res* 16:87-91.

Kalampokis A, Argyrakis P ve Macheras P (1999) A heterogeneous tube model of intestinal drug absorption based on probabilistic concepts (Olasılık kavramlarına dayanan bağırsak ilaç emiliminin heterojen bir tüp modeli). *Pharm Res* 16:1764-9.

Katayama K, Ohtani H, Kawabe T, Mizuno H, Endoh M, Kakemi M ve Koizumi T (1990) Kinetic studies on drug disposition in rabbits. I. Renal excretion of iodopyracet and sulfamethizole (Tavşanlarda ilaç dağılımı üzerine kinetik çalışmalar. I. İyodopiraset ve sülfametizolün böbrekle atılımı). *J Pharmacobiodyn* 13:97-107.

Klaassen CD (1986) Distribution, Excretion and Absorption (Dağılım, Boşaltım ve Emilim). *Kaynak: Klaassen CD (Ed.) Casarett and Doull's Toxicology (Casarett ve Doull ile Toksikoloji)*. McMillan, New York, ABD.

Klaassen CD (1988) Intestinal and hepatobiliary disposition of drugs (İlaçların bağırsak ve hepatobiliyer dağılımı). *Toxicol Pathol* 16:130-7.

Klaassen CD (2002) Xenobiotic transporters: another protective mechanism for chemicals (Ksenobiyotik taşıyıcılar: kimyasallar için başka bir koruyucu mekanizma). *Int J Toxicol* 21:7-12.

Klaassen CD ve Slitt AL (2005) Regulation of hepatic transporters by xenobiotic receptors (Ksenobiyotik reseptörler tarafından hepatik taşıyıcıların düzenlenmesi). *Curr Drug Metab* 6:309-28.

Komiya I (1986) Urine flow dependence of renal clearance and interrelation of renal reabsorption and physicochemical properties of drugs (Böbrek klirensinin idrar akışına bağımlılığı ve böbrek yeniden emilimi ile ilaçların fizikokimyasal özelliklerinin karşılıklı ilişkisi). *Drug Metab Dispos* 14:239-45.

Komiya I (1987) Urine flow-dependence and interspecies variation of the renal reabsorption of sulfanilamide (İdrar akışına bağımlılık ve sülfanilamidin böbrek yeniden emiliminin türler arası değişkenliği). *J Pharmacobiodyn* 10:1-7.

Krishnan K ve Andersen ME (2001) Physiologically based pharmacokinetic modeling in toxicology (Toksikolojide fizyolojik tabanlı farmakokinetik modelleme). *Kaynak: Hayes AW (Ed.) Principles and methods in Toxicology (Toksikolojide ilkeler ve yöntemler)*. Taylor and Francis, Philadelphia, PA, ABD.

Kroes R, Renwick AG, Cheeseman M, Kleiner J, Mangelsdorf I, Piersma A, Schilter B, Schlatter J, van Schothorst F, Vos JG ve Wurtzen G (2004) Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): guidance for application to substances present at low levels in the diet (Toksikolojik kaygının yapı temelli eşikleri (TTC): beslenmede düşük seviyelerde bulunan maddeler için uygulama rehberi. *Food Chem Toxicol* 42:65-83.

Lee SK, Ou YC ve Yang RS (2002) Comparison of pharmacokinetic interactions and physiologically based pharmacokinetic modeling of PCB 153 and PCB 126 in nonpregnant mice, lactating mice, and suckling pups (Gebe olmayan farelerde, emziren farelerde ve emzirilen yavrularda PCB 153 ve PCB 126'nın farmakokinetik etkileşimlerinin ve fizyolojik temelli farmakokinetik modellemenin karşılaştırılması). *Toxicol Sci* 65:26-34.

Levine WG (1978) Biliary excretion of drugs and other xenobiotics (İlaçların ve diğer ksenobiyotiklerin biliyer atılımı). *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 18:81-96.

Luecke RH, Wosilait WD, Pearce BA ve Young JF (1994) A physiologically based pharmacokinetic computer model for human pregnancy (İnsan hamileliği için fizyolojik tabanlı farmakokinetik bilgisayar modeli). *Teratology* 49:90-103.

Luecke RH, Wosilait WD, Pearce BA ve Young JF (1997) A computer model and program for xenobiotic disposition during pregnancy (Hamilelik sırasında ksenobiyotik dağılımı için bir bilgisayar modeli ve programı). *Comput Methods Programs Biomed* 53:201- 24.

Matsson P, Bergstrom CA, Nagahara N, Tavelin S, Norinder U ve Artursson P (2005) Exploring the role of different drug transport routes in permeability screening (Geçirgenlik taramasında farklı uyuşturucu taşıma yollarının rolünün araştırılması). *J Med Chem* 48:604-13.

Nau H ve Scott WJ (1987) Species Differences in Pharmacokinetics, Drug Metabolism and Teratogenesis (Farmakokinetik, İlaç Metabolizması ve Teratogenezde Tür Farklılıkları). Kaynak: Nau H ve Scott WJ (Ed.) *Pharmacokinetics in Teratogenesis (Teratogenezde farmakokinetik)*. CRC Press, Boca-Raton, Fl, ABD, s.81-106.

Nestorov IA (1999) Sensitivity analysis of pharmacokinetic and pharmacodynamic systems: I. A structural approach to sensitivity analysis of physiologically based pharmacokinetic models (Farmakokinetik ve farmakodinamik sistemlerin hassasiyet analizi: I. Fizyolojik tabanlı farmakokinetik modellerin hassasiyet analizine yapısal bir yaklaşım). *J Pharmacokinet Biopharm* 27:577-96.

Ni PFN, Ho HF, Fox JL, Leuenberger H ve Higuchi WI (1980) Theoretical model studies of intestinal drug absorption V. Nonsteady-state fluid flow and absorption (Bağırsakta ilaç emiliminin teorik model çalışmaları V. Kararsız halde sıvı akışı ve emilimi). *Int J Pharm* 5:33-47.

Noonan PK ve Wester RC (1989) Cutaneous metabolism of xenobiotics (Ksenobiyotiklerin kutanöz metabolizması). Kaynak: Bronough RL ve Maibach HI (Ed.) *Percutaneous Absorption (Perkütan Emilim)*. Marcel Dekker Inc., New York, ABD.

Nordberg M, Duffus J ve Templeton D (2004) Glossary of terms used in toxicokinetics (IUPAC recommendations 2003) (Toksikokinetikte kullanılan terimler sözlüğü (IUPAC önerileri 2003)). *Pure Appl Chem* 76:1033-82.

OECD (2004) Deri emilimi çalışmalarının yürütülmesi için rehber doküman. Test ve Değerlendirme Üzerine Seri 28, ENV/JM//MONO(2004)2. 2004. Paris, OECD.

Parrott N ve Lave T (2002) Prediction of intestinal absorption: comparative assessment of GASTROPLUS and IDEA (Bağırsak emiliminin tahmini: GASTROPLUS ve IDEA'nın karşılaştırmalı değerlendirmesi). *Eur J Pharm Sci* 17:51-61.

Parrott N, Paquereau N, Coassolo P ve Lave T (2005) An evaluation of the utility of physiologically based models of pharmacokinetics in early drug discovery (Erken ilaç keşfinde fizyolojik tabanlı farmakokinetik modellerinin faydasının bir değerlendirmesi). *J Pharm Sci* 94:2327-43.

Parrott N, Jones H, Paquereau N ve Lave T (2005) Application of full physiological models for pharmaceutical drug candidate selection and extrapolation of pharmacokinetics to man (Farmasötik ilaç aday seçimi ve farmakokinetiğin insana ekstrapolasyonu için tam fizyolojik modellerin uygulanması). *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 96:193-9.

Pelkonen O, Boobis AR ve Gundert-Remy U (2001) In vitro prediction of gastrointestinal absorption and bioavailability: an experts' meeting report (Sindirim yolu emilimi ve biyoyararlanımın in vitro tahmini: bir uzmanlar toplantısı raporu). *Eur J Clin Pharmacol* 57:621- 9.

Pelkonen O, Turpeinen M, Uusitalo J, Rautio A ve Raunio H (2005) Prediction of drug metabolism and interactions on the basis of in vitro investigations (İn vitro araştırmalar temelinde ilaç metabolizması ve etkileşimlerinin tahmini). *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 96:167-75.

Potts RO ve Guy RH (1992) Predicting skin permeability (Cilt geçirgenliğinin tahmini). *Pharm Res* 9:663-9.

Poulin P ve Theil FP (2002) Prediction of pharmacokinetics prior to in vivo studies. 1. Mechanism-based prediction of volume of distribution (İn vivo çalışmalardan önce farmakokinetik tahmini. 1. Dağılım hacminin mekanizmaya dayalı tahmini). *J Pharm Sci* 91:129-56.

Poulin P ve Theil FP (2002) Prediction of pharmacokinetics prior to in vivo studies. II. Generic physiologically based pharmacokinetic models of drug disposition (İn vivo çalışmalardan önce farmakokinetik tahmini. II. İlaç dağılımının genel fizyolojik tabanlı farmakokinetik modelleri). *J Pharm Sci* 91:1358-70.

Pritchard JB (1981) Renal handling of environmental chemicals (Çevresel kimyasalların böbrek yönetimi). *Kaynak: Hook JB (Ed.) Toxicology of the kidney (Böbreğin toksikolojisi)*. Raven Press, New York, ABD.

Proctor NJ, Tucker GT ve Rostami-Hodjegan A (2004) Predicting drug clearance from recombinantly expressed CYPs: intersystem extrapolation factors (Rekombinant olarak ifade edilen CYP'lerden ilaç klirensinin tahmini: sistemler arası ekstrapolasyon faktörleri). *Xenobiotica* 34:151- 78.

Pryde DE ve Payne MP (1999) Refinements to an existing knowledge based system for predicting the potential for dermal absorption (Deri emilimi potansiyelini tahmin etmek için mevcut bir bilgi tabanlı sisteme yapılan iyileştirmeler). IR/EXM/99/07. Sheffield, İngiltere, Sağlık ve Güvenlik Laboratuvarı.

Reddy M, Yang R, Clewell HJ III ve Andersen ME (2005) Physiologically Based Pharmacokinetic (PBPK) Modelling: Science and Application (Fizyolojik Tabanlı Farmakokinetik (PBPK) Modelleme: Bilim ve Uygulama). Wiley Interscience, Hoboken, New Jersey, ABD.

Renwick AG (1994) Toxicokinetics - pharmacokinetics in toxicology (Toksikolojide toksikokinetik - farmakokinetik). *Kaynak: Hayes,A.W. (ed.) Principles and Methods of Toxicology (Toksikoloji İlkeleri ve Yöntemleri)*. Raven Press, New York, ABD, s.103.

Roberts SA (2001) High-throughput screening approaches for investigating drug metabolism and pharmacokinetics (İlaç metabolizması ve farmakokinetiğini araştırmak için yüksek verimli tarama yaklaşımları). *Xenobiotica* 31:557-89.

Rodgers T, Leahy D ve Rowland M (2005) Tissue distribution of basic drugs: accounting for enantiomeric, compound and regional differences amongst beta-blocking drugs in rat (Temel ilaçların doku dağılımı: sıçanda beta bloke edici ilaçlar arasındaki enantiyomerik, bileşik ve bölgesel farklılıkları hesaba katmak). *J Pharm Sci* 94:1237-48.

Rodgers T, Leahy D ve Rowland M (2005) Physiologically based pharmacokinetic modeling 1: predicting the tissue distribution of moderate-to-strong bases (Fizyolojik tabanlı farmakokinetik modelleme 1: orta ila güçlü bazların doku dağılımının tahmini). *J Pharm Sci* 94:1259-76.

Rodgers T ve Rowland M (2006) Physiologically based pharmacokinetic modelling 2: predicting the tissue distribution of acids, very weak bases, neutrals and zwitterions (Fizyolojik tabanlı farmakokinetik modelleme 2: asitlerin, çok zayıf bazların, nötrlerin ve zwitteryonların doku dağılımının tahmini). *J Pharm Sci* 95:1238-57.

Rollins DE ve Klaassen CD (1979) Biliary excretion of drugs in man (İnsanda biliyer ilaç atılımı). *Clin Pharmacokinet* 4:368-79.

Rowland M ve Tozer T (1989) *Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications* (Klinik Farmakokinetik: Kavramlar ve Uygulamalar). Lea and Fibiger, Philadelphia, ABD.

Rowland M, Balant L ve Peck C (2004) Physiologically based pharmacokinetics in drug development and regulatory science: a workshop report (İlaç geliştirme ve düzenleyici bilimde fizyolojik tabanlı farmakokinetik: bir çalıştay raporu) (Georgetown Üniversitesi, Washington, DC, 29-30 Mayıs 2002). *AAPS Pharm Sci* 6:E6.

Rozman KK (1986) Faecal excretion of toxic substances (Toksik maddelerin fekal atılımı). *Kaynak: Rozman KK ve Hanninen O (Ed.) Gastrointestinal Toxicology* (Sindirim Yolu Toksikolojisi). Elsevier, Amsterdam, Hollanda.

Rozman KK ve Klaassen CD (1996) Absorption, Distribution, and Excretion of Toxicants (Toksik Maddelerin Emilimi, Dağılımı ve Boşaltımı). *Kaynak: Klaassen CD (Ed.) Cassarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons* (Cassarett ve Doull ile Toksikoloji. Zehirlerin Temel Bilimi). McGraw-Hill, New York, ABD.

Saltelli A, Tarantola S ve Campolongo F (2000) Sensitivity analysis as an ingredient of modeling (Modellemenin bir bileşeni olarak hassasiyet analizi). *Stat Sci* 15:377-95.

Schaefer H ve Redelmeier TE (1996) Skin Barrier - Principles of percutaneous Absorption (Deri Bariyeri - Perkütan Emilim İlkeleri). Karger, Basel, İsviçre.

Schlesinger RB (1995) Deposition and clearance of inhaled particles (Solunan partiküllerin birikimi ve temizlenmesi). *Kaynak: McClellan RO ve Henderson RF (Ed.) Concepts in Inhalation Toxicology* (Soluma Toksikolojisinde Kavramlar). Taylor and Francis, Washington DC, ABD.

Seibert H, Morchel S ve Gulden M (2002) Factors influencing nominal effective concentrations of chemical compounds in vitro: medium protein concentration (Kimyasal bileşiklerin in vitro nominal etkili konsantrasyonlarını etkileyen faktörler: orta protein konsantrasyonu). *Toxicol In vitro* 16:289-97.

Smith RL (1973) Factors affecting biliary excretion. The excretory function of the bile (Safra atılımını etkileyen faktörler. Safranın boşaltım işlevi). Chapman and Hall, London, İngiltere.

Schneider K, Oltmanns J ve Hassauer M (2004) Allometric principles for interspecies extrapolation in toxicological risk assessment-empirical investigations (Toksikolojik risk değerlendirmesi-deneyisel araştırmalarda türler arası ekstrapolasyon için allometrik ilkeler). Regul Toxicol Pharmacol 39:334-47.

Shiran MR, Proctor NJ, Howgate EM, Rowland-Yeo K, Tucker GT ve Rostami-Hodjegan A (2006) Prediction of metabolic drug clearance in humans: In vitro-in vivo extrapolation vs allometric scaling (İnsanlarda metabolik ilaç klirensinin tahmini: İn vitrodan-in vivoya ekstrapolasyon karşısında allometrik ölçekleme). Xenobiotica 36:567-80.

Snipes MB (1989) Long-term retention and clearance of particles inhaled by mammalian species (Memeli türleri tarafından solunan partiküllerin uzun süreli tutulumu ve temizlenmesi). 1. Crit Rev Toxicol 20:175-211.

Snipes MB (1995) Pulmonary retention of particles and fibers: Biokinetics and effects of exposure concentrations (Partiküllerin ve liflerin pulmoner tutulumu: Biyokinetik ve maruz kalma konsantrasyonlarının etkileri). Kaynak: McClellan RO ve Henderson RF (Ed.) Concepts in Inhalation Toxicology (Soluma Toksikolojisinde Kavramlar). Taylor and Francis, Washington DC, ABD.

Snipes MB, James AC ve Jarabek AM (1997) The 1994 ICRP66 human respiratory tract dosimetry model as tool for predicting lung burdens from exposure to environmental aerosols (Çevresel aerosollere maruz kalmadan kaynaklanan akciğer yüklerinin tahmini için bir araç olarak 1994 ICRP66 insan solunum yolu dozimetri modeli). Appl Occup Environ Hyg 12:547-54.

Stenberg P, Bergstrom CA, Luthman K ve Artursson P (2002) Theoretical predictions of drug absorption in drug discovery and development (İlaç keşfi ve geliştirilmesinde ilaç emiliminin teorik tahminleri). Clin Pharmacokinet 41:877-99.

Tavelin S, Grasjo J, Taipalensuu J, Ocklind G ve Artursson P (2002) Applications of epithelial cell culture in studies of drug transport (İlaç taşıma çalışmalarında epitel hücre kültürü uygulamaları). Methods Mol Biol 188:233-72.

Theil FP, Guentert TW, Haddad S ve Poulin P (2003) Utility of physiologically based pharmacokinetic models to drug development and rational drug discovery candidate selection (İlaç geliştirme ve rasyonel ilaç keşfi aday seçiminde fizyolojik tabanlı farmakokinetik modellerin faydası). Toxicol Lett 138:29-49.

Turpeinen M, Uusitalo J, Jalonen J ve Pelkonen O (2005) Multiple P450 substrates in a single run: rapid and comprehensive in vitro interaction assay (Tek bir çalışmada çoklu P450 substratları: hızlı ve kapsamlı in vitro etkileşim testi). Eur J Pharm Sci 24:123- 32.

ABD EPA (1992) Deri maruz kalma değerlendirmesi: İlkeler ve Uygulamalar. EPA/600/8-91.001B. Washington DC, ABD EPA.

ABD EPA (1994) Soluma referans konsantrasyonlarının türetilmesi ve soluma dozimetrisinin uygulanması için yöntemler. EPA/600/8-90/066F.

US EPA (1997) Maruz Kalma Faktörleri El Kitabı Cilt. I-III. EPA/600/P-95/002Fa. Washington DC, ABD-EPA.

ABD EPA (2004) Risk Değerlendirme Rehberi Superfund Cilt I: İnsan Sağlığı Değerlendirmesi Rehberi (Bölüm E, Deri Risk Değerlendirmesi için Ek Rehber). EPA/540/R/99/005. Washington DC, ABD EPA.

ABD EPA (2007) Fizyolojik Tabanlı Farmakokinetik (PBPK) Modellerin uygulanmasına yönelik yaklaşımlar ve risk değerlendirmesinde destekleyici veriler. EPA/600/R-05/043F. Washington DC, ABD EPA.

Velasquez DJ (2006) Toxicologic responses to inhaled aerosols and their ingredients (Solunan aerosollere ve bileşenlerine toksikolojik cevaplar). *Kaynak:* Byron PR (Ed.) Respiratory Drug Delivery (Solunum Yoluyla İlaç Teslimi). CRC Press, Boca Raton, Florida, ABD.

Watanabe KH ve Bois FY (1996) Interspecies extrapolation of physiological pharmacokinetic parameter distributions (Fizyolojik farmakokinetik parametre dağılımlarının türler arası ekstrapolasyonu). Risk Anal 16:741-54.

West GB, Brown JH ve Enquist BJ (1997) A general model for the origin of allometric scaling laws in biology (Biyolojide allometrik ölçekleme yasalarının kökeni için genel bir model). Science 276:122-6.

Williams FM (2004) EDETOX. Evaluations and predictions of dermal absorption of toxic chemicals (Toksik kimyasalların deri emiliminin değerlendirmeleri ve tahminleri). Int Arch Occup Environ Health 77:150-1.

Willmann S, Schmitt W, Keldenich J ve Dressman JB (2003) A physiologic model for simulating gastrointestinal flow and drug absorption in rats (Sıçanlarda sindirim yolu akışı ve ilaç emilimini temsil etmek için fizyolojik bir model). Pharm Res 20:1766-71.

Willmann S, Schmitt W, Keldenich J, Lippert J ve Dressman JB (2004) A physiological model for the estimation of the fraction dose absorbed in humans (İnsanlarda emilen oran dozunun tahmini için fizyolojik bir model). J Med Chem 47:4022- 31.

Wilschut A, Houben GF ve Hakkert BC (1998) Evaluation of route-to-route extrapolation in health risk assessment for dermal and respiratory exposure to chemicals (Kimyasallara deri ve solunum yoluyla maruz kalma için sağlık riski değerlendirmesinde yoldan yola ekstrapolasyon değerlendirilmesi). V97.520. 1998. Zeist, NL, TNO.

Woolen BH (1993) Biological monitoring for pesticide absorption (Pestisit emilimi için biyolojik izleme). Ann.Occup Hyg 37:525-40.

You L, Gazi E, Archibeque-Engle S, Casanova M, Conolly RB ve Heck HA (1999) Transplacental and lactational transfer of p,p'-DDE in Sprague-Dawley rats (Sprague-Dawley sıçanlarında p, p'-DDE'nin transplasental ve emzirme yoluyla aktarımı). Toxicol Appl Pharmacol 157:134-44.

Yu LX, Lipka E, Crison JR ve Amidon GL (1996) Transport approaches to the biopharmaceutical design of oral drug delivery systems: prediction of intestinal absorption (Oral ilaç uygulama sistemlerinin biyofarmasötik tasarımına aktarım yaklaşımları: bağırsak emiliminin tahmini). Adv Drug Deliv Rev 19:359-76.

Yu LX, Crison JR ve Amidon GL (1996) Compartmental transit and dispersion model analysis of small intestinal transit flow in humans (İnsanlarda ince bağırsak geçiş akışının ortamsal geçiş ve dağılım modeli analizi). Int J Pharm 140:111-8.

Yu LX ve Amidon GL (1999) A compartmental absorption and transit model for estimating oral drug absorption (Oral ilaç emiliminin tahmini için bir ortamsal emilim ve geçiş modeli). Int J Pharm 186:119-25.

Young JF, Wosilait WD ve Luecke RH (2001) Analysis of methylmercury disposition in humans utilizing a PBPK model and animal pharmacokinetic data (PBPK modeli ve hayvan farmakokinetik verilerini kullanarak insanlarda metil cıva dağılımının analizi). J Toxicol Environ Health A 63:19-52.

Zini R (1991) Methods in drug protein binding analysis (İlaç protein bağlama analizinde yöntemler). Kaynak: Kuemerle P, Tillement JP ve Shibuya J (Ed.) Human Pharmacology (İnsan Farmakolojisi). Elsevier, Amsterdam, Hollanda, s.235- 82.

Zhao YH, Abraham MH, Le J, Hersey A, Luscombe CN, Beck G, Sherborne B ve Cooper I (2002) Rate-limited steps of human oral absorption and QSAR studies (İnsan oral emiliminin hızla sınırlı adımları ve QSAR çalışmaları). Pharm Res 19:1446-57.

R.7.13 Test ve maruz kalmayla ilgili özel hususlar gerektiren maddeler

Zararlılık ve risk karakterizasyonu için standart yaklaşımlar, belirli bir maddeye insan ve/veya çevresel maruz kalmanın, standart test protokollerinde kullanılan test maddesine maruz kalmayla yeterli şekilde temsil edildiği önermesine dayanır. Bununla birlikte, insan ve/veya çevresel maruz kalmanın meydana geldiği bir maddenin bileşiminin laboratuvar çalışmalarında test edilenden farklı olabileceği durumlar olabilir. Örneğin, bileşimde değişkenliğe sahip maddeler, farklı bileşenlerin maruz kalma profilinde zaman içinde benzer bir değişikliğe neden olabilir. Ayrıca, karmaşık bir karışım olan bir sıvının bileşimi, ilişkili buhar fazından veya Suda Yerleşik Orandan (WAF) çok farklı olabilir ve bu nedenle, laboratuvarda test edilecek numunenin bileşiminin, olası insan veya çevresel maruz kalma bileşimini tam olarak yansıtmamasını sağlamak için özel bir test stratejisi geliştirmek gereklidir. Bu tür maddeler, *Standart Olmayan maddeler*, *Karmaşık Maddeler* veya *Bileşimi Bilinmeyen veya Değişen Madde*, *Kompleks reaksiyon ürünleri* veya *Biyolojik maddeler* (UVCB maddeler) olarak adlandırılır ve genellikle aşağıdaki özelliklere sahiptir:

- çok sayıda madde içerirler (tipik olarak yakından ilişkili izomerler ve/veya tanımlanmış karbon sayısına veya damıtma aralıklarına sahip kimyasal sınıflar) ve basit bir kimyasal yapı ile temsil edilemez veya belirli bir moleküler formülle tanımlanamazlar
- kasıtlı madde karışımları değildir.
- çoğu doğal kökenlidir (örn. ham petrol, kömür, bitki özleri) ve bileşen kimyasal türlerine ayıramaz.
- *safsızlıklar* kavramı tipik olarak karmaşık maddeler için geçerli değildir.
- fiziko-kimyasal özellikleri ile ilgili bir performans özel durumuna göre üretilirler.

Bu madde sınıfı, KKDİK gerekliliklerinin karşılanması için gerekli olan uygun bilgi ve yöntemlerin tanımlanması için yaklaşımın duruma göre değerlendirilmesini gerektirir. Pigmentler, yüzey aktif maddeler, antioksidanlar ve karmaşık klorlu maddeler, karmaşık maddeler için test gerekliliklerini dikkate almak üzere özel hususlar gerektirebilecek madde sınıflarına örnektir. Uçucu yağlar gibi doğal karmaşık maddelerin değerlendirilmesi için öneriler yakın zaman öncesinde yayınlanmıştır (<http://echa.europa.eu/support/substance-identification/sector-specific-support-for-substance-identification/essential-oils>). İlave örnekler, sırasıyla metal ve inorganik maddeler ve petrol ürünleri için Bölüm [R.7.13.1](#) ve [R.7.13.2](#) 'de sunulmuştur.

R.7.13.1 Metaller ve İnorganikler

Metaller ve inorganik metal bileşikler, zararlılık ve risklerini değerlendirirken özel hususlar gerektiren özelliklere sahiptir. Bu hususlar aşağıda belirtilenleri içerebilir:

- Metallerin gıda, içme suyu ve tüm çevresel katmanlarda doğal elementler olarak ortaya çıkması
- Çevrede yaşayan insanlar ve organizmalar için bazı metallerin esas gerekliliği ve doğal arka plan ile genel ilişkileri
- Biyoyararlanımı etkileyen metallerin türleşmesi ve hatta bazıları için zararlılık profili
- Metallerin kısa ve uzun süreli biyoyararlanımı ve çevredeki insanlar ve diğer organizmalar için farklı derecelerde bulunabilirliği

Klasik (eko-) toksisite testleri, yukarıdaki özellikleri mutlaka dikkate almayabilir ve bu nedenle elde edilen sonuçların yorumlanması zor olabilir. Metalleri ve inorganik metal bileşiklerini test ederken belirli hususların dikkate alınması genellikle bunları önleyebilir. Mevcut Maddeler Tüzüğü programı altında metallerin zararlılık ve risk değerlendirmesine ilişkin kapsamlı deneyim toplanmış ve metallerle ilgili teknik ve bilimsel bilgi önemli ölçüde ilerlemiştir. Bunlar çevre için Van Gheluwe *ve ark.* (2006) ve insan sağlığı için Battersby *ve ark.* (2006) tarafından ayrıntılı olarak tanımlanmıştır. Metallerin ve inorganik metal bileşiklerinin zararlılık ve risk değerlendirmesine yönelik test ve veri yorumuna ilişkin özel rehberlik, sonlanma noktalarıyla ilgili bölümlerde verilmiştir.

R.7.13.2 Petrol Maddeleri

Petrol maddeleri UVCB maddeler grubuna aittir: doğal ham petrolardan türetilmeleri ve üretimlerinde kullanılan rafinasyon süreçleri nedeniyle genellikle değişken bileşime sahip karmaşık hidrokarbon karışımlarıdır. Pek çok petrol maddesi çok yüksek tonajlarda bir dizi teknik özellik ve nadiren de olsa karakterize edilebilmişse belirli maddelerin kesin kimyasal bileşimi ile üretilir. Karmaşık petrol maddelerinin tipik olarak damıtma temelinde ayrılabilirliği sebebiyle, teknik özellikler genellikle bir kaynama noktası aralığı içerir. Bu aralıklar, karbon sayısı aralıkları ile ilişkiliyken, orijinal ham petrolün doğası ve sonrasındaki rafineri işlemleri, mevcut hidrokarbon yapılarının türlerini ve miktarını etkiler. Çeşitli petrol maddesi akışları için oluşturulan CAS tanımları, nihai rafineri işleminin ayrıntıları dahil olmak üzere genellikle bunu yansıtır (kaynama aralığı; karbon sayısı aralığı ve mevcut baskın hidrokarbon türleri).

Çoğu petrol maddesi için, kimyasal bileşimin karmaşıklığı, tam bir karakterizasyonun elde edilebilmesi için yaygın analitik metodolojinin kapasitesinin ötesinde olacak şekildedir. Tipik maddeler, ağırlıklı olarak düz ve dallanmış zincir alkanların karışımlarından, tekli ve çoklu naftenik halka yapılarından (genellikle alkil yan zincirlerle), tekli ve çoklu aromatik halka yapılarından (genellikle alkil yan zincirlerle) oluşabilir. Hidrokarbon bileşenlerin moleküler ağırlıkları arttıkça, olası yapıların (izomerik formlar) sayısı ve karmaşıklığı üstel olarak artar.

Petrol maddelerine benzer şekilde hidrokarbon çözücüler; aynı zamanda değişken, karmaşık hidrokarbon karışımlarından oluşurlar ve petrol rafineri akışları için de kullanılan EINECS numaraları ile tanımlanırlar. Hidrokarbon çözücüler genellikle aşağıdaki şekillerde petrol rafinerisi akışlarından farklılık gösterir:

- daha yüksek derecede rafinedir;

- daha dar bir karbon sayısı aralığını kapsar;
- neredeyse hiç endişe verici madde içermezler (örn. benzen)
- neredeyse hiç olefin içermezler.

Bileşimsel olarak karşılık gelen petrol akışlarından biraz daha iyi tanımlanmasına rağmen, hidrokarbon çözücüler, petrol maddelerine benzer test stratejilerinin özel olarak dikkate alınmasını gerektirir.

Toksisite, bir konsantrasyon cevabı yoluyla tanımlanır ve bir UVCB test maddesindeki tekli bileşenlerin biyoyararlanımına bağlıdır. Bu, bazı maddelerin yorumlanmasını çok zorlaştırabilir. Örneğin, fiziksel form, tüm maddenin doğrudan test ortamına uygulandığı durumlarda, böyle bir maddenin tek tek bileşenlerinin çözülmesini önemli ölçüde engelleyebilir. Bunun sonucu, böyle bir test sisteminde toksisitenin görülmeyebileceğidir. Bu nedenle, orijinal matristen bağımsız olarak çevreye salınmaları halinde, bu bileşenlerin toksisite değerlendirmesinin ele alınmasına izin vermeyecektir.

Petrol maddelerinin çevresel etkileri için test stratejileri, zorunlu olarak bileşimlerinin karmaşıklığını yansıtır. Hidrokarbon bileşenlerin özelliklerini yansıtarak, petrol maddeleri tipik olarak hidrofobiktir ve suda düşük çözünürlük sergiler. Bununla birlikte, yapı çeşitliliğini yansıtan şekilde, hidrokarbon bileşenler geniş bir su çözünürlüğü aralığı sergileyecektir. Karmaşık bir petrol maddesinin artan miktarlarını suya eklerken, en az çözünür bileşenin çözünürlük sınırının aşıldığı ve geri kalan bileşenlerin su ve çözünmemiş hidrokarbon fazları arasında dağılacığı bir noktaya ulaşılabilecektir. Sonuç olarak, toplam çözünmüş hidrokarbonların bileşimi, ana maddenin bileşiminden farklı olacaktır. Bu suda çözünürlük davranışı, bu karmaşık maddeler için sucul toksisite testlerinin hem yürütülmesini hem de yorumlanmasını etkilerken, karmaşık bileşim ve genellikle düşük suda çözünürlük, biyobozunurluk çalışmalarının seçimini ve yürütülmesini etkiler.

Petrol türevi UVCB maddeler için, WAF prosedürü olarak da bilinen öldürücü yükleme testi prosedürü, karmaşık petrol maddelerinin kısa süreli sucul toksisitesini değerlendirmek için teknik temeli sağlar (Girling ve ark., 1992). Test sonuçları, belirli bir maruz kalma süresinden sonra belirli bir olumsuz etkiye neden olan öldürücü veya etkili bir yükleme olarak ifade edilir. Bu test prosedürünün temel avantajı, gözlemlenen sucul toksisitenin, belirli bir maddede petrol maddesini içeren hidrokarbon bileşenlerin su yüklemesine karşı çok bileşenli çözünme davranışını yansıtmasıdır. Petrol maddeleri söz konusu olduğunda, öldürücü yükleme açısından sucul toksisitenin ifade edilmesi, suda çözünürlük sınırlarında suda yaşayan organizmalar için esasen toksik olmayan bileşenlerden oluşan karmaşık maddelerin, daha çözünür hidrokarbonlar içeren ve sucul toksisiteye neden olabilecek petrol maddelerinden ayırt edilmesini sağlar. Sonuç olarak, bu test prosedürü suda az çözünür, karmaşık maddelerin bağıl toksisitesini değerlendirmek için tutarlı bir temel sağlar ve çevresel zararlılık sınıflandırmasında kullanılmak üzere benimsenmiştir (UNECE, 2003). 1 mg/l'lik bir madde yüklemesinde gözlemlenen kronik toksisite göstermeyen karmaşık maddeler, ilgili bileşenlerin sucul ortam için uzun süreli zararlılık oluşturmadığını ve dolayısıyla zararlılık sınıflandırması gerektirmediğini gösterir (CONCAWE, 2001; UNECE 2003).

Yukarıda bahsedilen sonuçların yorumlanmasındaki sınırlamaları akılda tutarak, yeni bilgi üretmek veya mevcut bilgileri yorumlamak için iki olası yaklaşım vardır:

- İlk olarak petrol maddeleri için, polar olmayan narkoz etki şeklini varsayan önceki çalışmalara dayanılarak PETROTOX modeli geliştirilmiştir (Redman ve ark., 2006) (McGrath ve ark., 2004; 2005). Petrol maddelerinin ve hidrokarbon bloklarının ekotoksitesini tahmin etmek için geliştirilen bu model, deneysel verilerin bulunmadığı bireysel yapıları ele almak için kullanılabilir.
- WAF yükleme konsepti çevresel zararlılık sınıflandırması (GHS 2005) için kullanılabilir, ancak PBT değerlendirmesi için kullanılmamalıdır.

Kompleks bileşim ve genellikle düşük olan suda çözünürlük de biyobozunurluk çalışmalarının seçimini ve yürütülmesini etkiler.

Hem test yönteminin seçimini hem de sonuçların yorumlanmasını etkileyen diğer bir güçlük, petrol maddelerinde bulunan karbon sayıları ve hidrokarbon yapıları aralığında geniş bir değişkenlik gösteren hidrokarbon bileşenlerin uçuculuğudur. Neredeyse tüm çevreye salım koşullarında hidrokarbon bileşenlerin çoğunda aşırı ölçüde uçuculuk olsa da, kapalı sistemlerde gerçekleştirilen testler aracılığıyla (uçucu kayıpların en aza indirilmesini sağlamak için her yönteme başvurulur) petrol maddelerinin doğasında bulunan zararlılıkların değerlendirilmesi yararlı olmuştur.

Petrol maddeleri için sağlık etkileri testi stratejileri, aynı zamanda bunların bileşimlerinin karmaşıklığını ve fiziko-kimyasal özelliklerini de yansıtır. Hem test yöntemi seçimini hem de sonuçların yorumlanmasını etkileyen kilit faktörler şunlardır:

- petrol maddelerinde bulunan karbon sayıları ve hidrokarbon yapıları aralığında geniş bir değişkenlik gösteren hidrokarbon bileşenlerin buhar basıncı. Bu, maruz kalmanın meydana geldiği malzemenin fiziksel yapısını etkileyecektir.
- petrol maddelerinde bulunan karbon sayıları ve hidrokarbon yapıları aralığında geniş bir değişkenlik gösteren hidrokarbon bileşenlerin lipid çözünürlüğü. Bu, vücut dokularına alım potansiyelini etkileyecektir.
- deri emilim potansiyelini önemli ölçüde etkileyebilecek kompleks petrol maddesinin viskozitesi
- karmaşık petrol maddelerindeki küçük miktarlarda tekli *zararlı* bileşenlerin varlığı, örneğin, karmaşık petrol maddesinin toksisitesiyle ilgili olabilecek veya olmayabilecek Poli Aromatik Hidrokarbonlar (PAH'lar)
- karmaşık karışımda zararlı bileşenlerin toksisitesini değiştirebilen (inhibe edebilen veya güçlendiren) diğer bileşenlerin varlığı.

Karmaşık petrol maddelerinin toksikolojik değerlendirmesi normalde tüm karışımın OECD Rehberi yöntemleri kullanılarak test edilmesinin sonuçlarına dayanmaktadır.

Bu yaklaşımı kullanarak, karışımın tekli bileşenleri arasında meydana gelen karmaşık etkileşimleri ve maruz kalma ve alım potansiyelini etkileyen çeşitli fiziko-kimyasal özellikleri hesaba katmak mümkün olmuştur. Bununla birlikte, bazı durumlarda, belirli petrol oranlarının toksisitesinin daha güvenilir bir göstergesini sağlamak için değiştirilmiş veya standart dışı test yöntemlerinin benimsenmesi gerekli olmuştur. Petrol maddelerinin sağlık ve çevresel etkilerini değerlendirmek için standart dışı yöntemlerin kullanımı, sonlanma noktasına özel bölümlerde daha ayrıntılı olarak anlatılmıştır.

R.7.13.3 Bölüm R.7.13 için Referanslar

Battersby R (2006) HERAG. Metal İnsan Sağlığı Risk Değerlendirmesi Rehber Dokümanı. www.icmm.com

CONCAWE (2001) Petrol maddelerinin çevresel sınıflandırması - özet veriler ve mantık. CONCAWE. Brüksel. Report No. 01/54.

Girling AE, Markarian RK ve Bennett D (1992) Aquatic toxicity testing of oil products - some recommendations (Petrol ürünlerinin sucul toksisite testi - bazı öneriler). Chemosphere 24:1469-72.

McGrath JA, Parkerton TF ve Di Toro DM (2004) Application of the narcosis target lipid model to algal toxicity and deriving predicted no effect concentrations (Narkoz hedef lipid modelinin alg toksisitesine uygulanması ve öngörülen etki gözlemlenmeyen konsantrasyonunun türetilmesi). Environ Toxicol Chem 23:2503-17.

McGrath JA, Parkerton TF, Hellweger FL ve Di Toro DM (2005) Validation of the narcosis target lipid model for petroleum products: gasoline as a case study (Petrol ürünleri için narkoz hedef lipid modelinin doğrulanması: bir vaka çalışması olarak benzin). Environ Toxicol Chem 24:2382-94.

OECD (2005) Zararlılık Değerlendirmesi için Yeni veya Güncellenmiş Test Yöntemlerinin Doğrulanması ve Uluslararası Kabulüne İlişkin Rehber Doküman no. 34. Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü.

Redman A, McGrath J, Parkerton T ve Di Toro D (2006) Mechanistic fate and effects model to predict ecotoxicity and PNEC values for petroleum products (Petrol ürünleri için ekotoksisite ve PNEC değerlerini tahmin etmek üzere mekanik davranış ve etkiler modeli). *Kaynak: SETAC, Den Haag, Ed.*

UN-ECE (2003) Kimyasalların Sınıflandırılması ve Etiketlenmesine Dair Avrupa (UN/ECE) Küresel Uyumlaştırılmış Sistemi (GHS). Birleşmiş Milletler Ekonomik Komisyonu. New York ve Cenevre.

Van Gheluwe M (2006) MERAG. Metallerin Çevresel Risk Değerlendirmesine İlişkin Rehber Doküman.

Bölüm R.7.13 için Ek

Ek R.7.13-1 Petrol Maddelerinin Çevresel Risk Değerlendirmesi için
Teknik Rehber

Ek R.7.13-1 Petrol Maddelerinin Çevresel Risk Değerlendirmesi için Teknik Rehber

1.0 Giriş

Petrol maddeleri tipik olarak bilinmeyen bir kompleks ve tekli hidrokarbonların değişken bileşiminden oluşur. Petrol maddelerini tanımlamak için kullanılan CAS numaraları, hidrokarbon türü, karbon sayısı, damıtma aralığı ve madde imalatında kullanılan işlemin türü ve şiddeti dahil olmak üzere çeşitli hususlara dayanmaktadır.

Zararları karakterize etmek için, CONCAWE (rafinaj ve dağıtımda çevre, sağlık ve güvenlik için petrol şirketlerinin Avrupa organizasyonu), petrol rafinasyonundan türetilen petrol maddelerinin CAS numaralarını, pazarlanan başlıca ürünlerin genel kategorilerine ayırmıştır (Boogard ve ark., 2005). Bu rafineri akışlarının daha fazla işlenmesi, daha rafine hidrokarbon bazlı çözücüler üretmek için gerçekleştirilebilir. Bu ürünler ayrıca çevresel zararlılık sınıflandırması amaçları için tutarlı bir mantık sağlamak üzere gruplandırılmıştır (Hidrokarbon Çözücü Üreticileri Derneği, 2002).

Petrol maddeleri tipik olarak fizyokimyasal ve davranış özelliklerinde büyük farklılıklar gösteren hidrokarbonlar içerir. Bu özellikler, hidrokarbon bileşenlerin emisyonlarını ve çevresel dağılımını değiştirir ve sonuç olarak bir petrol maddesi için benzersiz bir öngörülen maruz kalma konsantrasyonu (PEC) tanımlamak mümkün değildir. Bu nedenle, münferit maddeler için geliştirilen mevcut risk değerlendirme rehberini karmaşık petrol maddelerine doğrudan uygulamak mümkün değildir. CONCAWE, petrol maddelerinin çevresel maruz kalma ve risklerini değerlendirmek için sağlam bir teknik dayanak sağlamak üzere, benzer özelliklere sahip hidrokarbon bileşenlerin, PEC ve öngörülen etki gözlemlenmeyen konsantrasyonun (PNEC) belirlenmediği sahte (psödo) bileşenler veya "bloklar" olarak değerlendirildiği hidrokarbon blok yöntemini (HBM) tasarlamıştır (CONCAWE, 1996). Riskler daha sonra bileşen blokların PEC/PNEC oranlarının toplanmasıyla değerlendirilir. Bu kavramsal yaklaşım AB tarafından düzenleyici rehberlik olarak benimsenirken (EC, 2003) bu yöntemin uygulanmasına ilişkin deneyim sınırlıdır. Yakın zaman önce gerçekleştirilen çalışmalar, hidrokarbon blok yönteminin benzin için kullanımını göstermektedir (MacLoed ve ark., 2004; McGrath ve ark., 2004; Foster ve ark., 2005) ve HBM metodolojisinin daha yüksek kaynama noktalı petrol maddelerine pratik uygulamasını desteklemek için daha fazla çalışma devam etmektedir. Aşağıdaki bölüm, HBM ve petrol maddelerinin risk değerlendirmesine uygulanmasını içeren temel adımların kısa bir özetini sunmaktadır.

2.0 Yöntemin Özeti

HBM kullanılarak petrol maddelerinin risk değerlendirmesi sekiz aşamalı bir süreci içerir:

2.1. Petrol maddesi bileşimini ve değişkenliğinin analizi

İlk adım, petrol maddesi kategorisine dahil edilen farklı CAS numaralarına sahip temsili numunelerin analitik karakterizasyonunu içerir (örn. kerosinler, gaz yağları, ağır yakıt yağları, vb.).

Bu amaç için kullanılan analitik yaklaşımlar genellikle kromatografik metodolojiye dayanır ve daha önce açıklanmıştır (Comber ve ark., 2006, Eadsforth ve ark., 2006).

Petrol maddelerinin analizi için kullanılan seçenekler şunları içerir:

- a. GC kullanılarak tam karakterizasyon bazı basit maddeler üzerinde gerçekleştirilebilir (örneğin, benzin). Bununla birlikte, yüksek kaynama noktalı akışların tam karakterizasyonu, maddelerin karmaşıklığının artması ve bu tür maddelerde bulunan hidrokarbon bileşenlerinin hızla artan sayısı nedeniyle mümkün değildir.
- b. Numunenin aromatik ve alifatik oranlarının ilk olarak bir HPLC kolonu ile ayrıldığı "Değiştirilmiş" Toplam Petrol Hidrokarbonu (TPH). Her iki orandaki hidrokarbon dağılımı daha sonra alev yonlaşma tayini kullanılarak eşdeğer karbon sayısının bir fonksiyonu olarak ölçülür. Eşdeğer karbon sayısı (EC#), karşılık gelen n-alkan standartlarının elüsyon süresi ile tanımlanır. Bu yaklaşım, petrolle kirlenmiş alanların risk temelli değerlendirmesinde benimsenmiştir (McMillen ve ark., 2001). Bu yöntem, hidrokarbonları yaklaşık 120 eşdeğer karbon sayısına kadar ölçmek üzere kullanılabilir.
- c. İki boyutlu kromatografi (2d-GC), yukarıdaki TPH yönteminde kullanılan aynı ilk parçalama adımını kullanır. Çeşitli aromatik (örn., mono, di, tri, poli aromatik ve kısmen hidrojene aromatik halka sınıfları) ve alifatik (örn. n-parafinler, i-parafinler, monosiklikler, disiklikler ve polisiklik doymuş halka yapıları) sınıflarının daha fazla ayrılması, sırasıyla uçuculuk ve polariteye dayalı iki kolonun seri halinde birleştirilmesi ile sağlanır. Bu yüksek ayırma yöntemi, hidrokarbonları yaklaşık 35 eşdeğer karbon sayısına kadar ölçmek üzere kullanılabilir.. Bununla birlikte, bu yöntem 35 eşdeğer karbon sayısının altında önemli miktarda hidrokarbon içeren petrol maddeleriyle sınırlıdır (Eadsforth ve ark., 2006).

2.2 Ürün bileşimini tanımlamak için hidrokarbon blokların (HB) seçilmesi

Yukarıdaki yöntemler kullanılarak elde edilen bileşim verilerinin türü göz önüne alındığında, hidrokarbon bloklar, eşdeğer karbon sayısı (yani kaynama noktası aralığı) ve düşük (aromatik ve alifatik sınıflar) veya yüksek (16 hidrokarbon sınıfına kadar) ayrılmalı bloklama şemalarına göre seçilebilir. Aromatik ve alifatik sınıflar veya alt sınıflar içinde, fiziko-kimyasal özelliklerin değişkenliği, bloğu tanımlamak için kullanılan eşdeğer karbon sayısı aralığına bağlıdır. Birden fazla numuneden alınan analizler, araştırılan petrol maddesi kategorisini temsil eden HB kütle oranlarının ortalamasını ve değişimini belirlemek için kullanılmalıdır.

2.3. Hidrokarbon bloklar için ilgili fiziko-kimyasal ve davranış özelliği verilerinin tanımlanması

Çevresel davranış ve etki modellemesini gerçekleştirmek için, hidrokarbon bloklara fiziko-kimyasal ve davranış özellikleri atanmalıdır. HB özelliklerini tahmin etmek için, CONCAWE, petrol maddelerinde bulunan hidrokarbonların yapısal çeşitliliğini temsil etmeye çalışarak yaklaşık 1500 ayrı hidrokarbon yapısından oluşan bir kitaplık geliştirmiştir. Her yapı için, kamuya açık nicel yapı özellikli ilişkileri (QSPR) kilit özellikleri tahmin etmek için kullanılmıştır (örneğin, oktanol-su dağılım katsayısı, buhar basıncı, atmosferik oksitlenme yarı ömrü, balık biyokonsantrasyon faktörü) (Howard ve ark., 2006). Çeşitli ortamlar için birincil biyobozunurluk yarı ömürlerini tahmin etmek üzere, çevresel açıdan gerçekçi koşullar altında karışık kültürleri içeren, alıştırma olmayan koşullarda test edilen hidrokarbonlarla ilgili literatür verileri, hidrokarbona özel bir QSPR geliştirmek için kullanılmıştır (Howard ve ark., 2005).

Bu yeni QSPR, temsili kitaplık yapılarının yarı ömrünü tahmin etmek için uygulanmıştır. Bireysel kitaplık yapıları için özellik verileri daha sonra HB özellik tahminlerini atamak için karşılık gelen hidrokarbon bloklara "eşlenir". Çevresel ortamda eşdeğer karbon sayısı > 35 olan hidrokarbonların çok düşük çözünürlüğü nedeniyle, bu bileşenler, maruz kalma veya etki değerlendirmesinde daha fazla dikkate alınmayan inert bileşenler olarak işlem görürler.

2.4. Ürün yaşam döngüsü aşamaları boyunca hidrokarbon blokların çevresel emisyonlarının tahmin edilmesi

Hidrokarbon bloklar seçildikten ve özellikler tanımlandıktan sonra, petrol maddesi kategorisi için imalat, formülasyon, dağıtım, profesyonel ve kişisel kullanım ve atık yaşam aşamalarını kapsayan bir emisyon karakterizasyonu gerçekleştirilmelidir. Her bir çevresel katmana (hava, su ve toprak) giren emisyonların toplam büyüklüğünü değerlendirmeye ilave olarak, bu emisyonları petrol ürününü tanımlayan seçilen HB blokları açısından da belirlemek gerekir. Tek madde risk değerlendirmelerinde olduğu gibi, emisyon karakterizasyonu farklı ölçeklerde (yerel, bölgesel ve kıtasal) dikkate alınmalı ve ölçülen, modellenmiş veya diğer bilgilerin yokluğunda HB özelliklerinden ve ürün kullanım kategorilerinden türetilen koruyucu varsayılan emisyon faktörleri kullanılarak belirlenmelidir.

2.5. Davranış faktörlerinin ve hidrokarbon blokların alım oranlarının karakterize edilmesi

Hidrokarbon blokların çevresel davranışını değerlendirmek için, farklı birim emisyon senaryoları için her bir kitaplık yapısına ilişkin EUSES modellemesi gerçekleştirilmiştir (yani, sırasıyla kıtasal, bölgesel ve yerel ölçeklerde havaya veya suya veya toprağa 100 kg/yıl, 10 kg/yıl veya 1 kg/yıl emisyon). Bu EUSES model çalışmalarından, her bir emisyon senaryosu için davranış faktörleri (fF) ve insan alım oranları (iF) hesaplanmıştır. Her ortam için davranış faktörleri, ortamda hesaplanan PEC değerinin belirli bir senaryo için varsayılan emisyonla bölünmesiyle tanımlanır. Alım oranları, belirli bir senaryo için tahmini insan maruz kalmasının emisyonla bölünmesi olarak tanımlanır. Bu modelleme alıştırmaları, tüm temsili hidrokarbon yapıları için bir fF ve iF kitaplığı sağlamıştır (van de Meent, 2007). Bu yaklaşımın avantajı, EUSES davranış modellemesinin yalnızca bir kez yapılması gerektiğidir, böylece sonuçlar sonrasında farklı petrol maddesi grupları arasında tutarlı bir şekilde uygulanabilir.

2.6. Hidrokarbon bloklara çevresel ve insan maruz kalmasının belirlenmesi

Farklı mekansal senaryolar için ortamsal PEC değerleri ve insan maruz kalmasını hesaplamak için, senaryo için blok emisyonları ilk önce bu bloğa "haritalanan" temsili yapılar arasında eşit olarak bölünür. Emisyonlar daha sonra modelin öngörülen maruz kalmasını veya gerçek emisyonun insan alımını ölçeklendirmek için bu yapıya karşılık gelen karşılık gelen fF veya iF değerleri ile çarpılır. Daha sonra blok için PEC değerleri veya insan maruz kalması, bloğu oluşturan tüm temsili yapılar için sonuçların toplanmasıyla hesaplanır.

Petrol maddeleri için çevresel izleme verilerinin kullanımı özel bir değerlendirme gerektirir. "Toplam" hidrokarbonlar veya özel hidrokarbon yapıları (örneğin, naftalin, krizen) için veriler mevcut olabilirken, bu bileşenlerin kaynağı çoklu antropojenik ve doğal kaynaklar olabilir. Bu nedenle, bu tür salım veya izleme verileri yalnızca tarama amacıyla bir "blok" konsantrasyonunun en kötü durum, üst sınır tahminini sağlamak için kullanılabilir.

Aksine, modelden türetilen PEC değerlerinin madde risk değerlendirmesi için daha gerçekçi bir tahmin sağlaması amaçlanmıştır çünkü bu değerler, ortamda gözlemlenen toplam "blok" konsantrasyonunun, yalnızca incelenen belirli petrol maddesine atfedilebilen kısmını temsil etmektedir.

2.7. Hidrokarbon blokların çevresel etkilerinin değerlendirilmesi

Petrol maddeleri esas olarak sadece karbon ve hidrojenle oluştuğu için, bu maddeler narkotik bir etki şekli aracılığıyla ekotoksiste gösterecektir (Verhaar ve ark., 2000). Ayrıca, narkotik karışımlar için ekotoksiste sonlanma noktaları genel olarak gözlemlenir ve basitçe katkı maddesi olarak nicel şekilde modellenir (de Wolf ve ark., 1988; McGrath ve ark., 2005; DiToro ve ark., 2007). Petrol maddeleri içeren hidrokarbon blokların sucul ve atık su organizmaları üzerindeki çevresel etkilerini değerlendirmek için, toksisite ilişkilerinin oktanol-su dağılım katsayılarından ziyade membran-su ile ilişkili olduğu (Redman, 2007) Verbruggen (2003) çalışmasına dayanan, hedef lipid modelinin (McGrath ve ark., 2004; Redman ve ark., 2007) değiştirilmiş bir hali geliştirilmiştir. Bu revizyon, hedef lipid modelinin, birçok petrol maddesinde bulunan benzin aralığı hidrokarbonlarının ötesinde daha hidrofobik bileşenlere genişletilmesine izin vermek için gereklidir.

Revize edilmiş hedef lipid modeli, tüm CONCAWE kitaplık yapıları için PNEC değerleri türetmek için kullanılmıştır. Denge dağılım teorisi ile birleştirilirse, bu model çerçevesi ayrıca toprak/çökelti ortamındaki etki değerlendirmesini desteklemek için de kullanılabilir (Redman ve ark., 2007b).

2.8. Hidrokarbon blokların bireysel ve toplam riskinin değerlendirilmesi

Çevresel riskleri değerlendirmek için, bir blok içindeki her kitaplık yapısı için PEC/PNEC oranı hesaplanır ve ardından farklı yapılar için oranlar her blok içinde toplanır. Daha sonra, tüm blokların katkıda bulunduğu katkı riski, petrol madde grubunun riskini tahmin etmek için belirlenir. Bu hesaplama her bir mekansal ölçek için yapılır.

HBM yöntemini basit bir elektronik tablo tabanlı hesaplama aracına dönüştürmek için çabalar şu anda devam etmektedir. Bu araç, (1) petrol maddelerinin analitik karakterizasyonunu HB tanımına bağlayan; (2) farklı petrol grupları arasında tutarlı bir teknik çerçeve sağlayan; (3) bilimin mevcut durumunu yansıtan; ve (4) şeffaf ve pratik olan petrol maddesi risk değerlendirmesini desteklemek için genel bir metodoloji sağlamayı amaçlamaktadır. Bu aracın mevcudiyeti, risk karakterizasyonunun hassasiyetinin, bileşimsel varsayımlardaki veya alternatif "bloklama" şemalarındaki değişikliklere cevap olarak değerlendirilmesine de izin verecektir. Ayrıca, bu araç, PEC/PNEC oranına başlıca katkıda bulunan ve tahmini PEC PNEC > 1 ise, daha fazla veri toplamada iyileştirmenin mantıksal olarak odaklanabileceği hidrokarbon blokların tanımlanmasını sağlayacaktır.

3.0 Sınırlamalar

Şu anda mevcut HBM metodolojisi, standartlaştırılmış laboratuvar zararlılık verilerinin olmaması nedeniyle hava ortamı üzerindeki etkileri nicel olarak ele almamaktadır. İlave olarak, yöntem, belirli petrol maddelerinde düşük seviyelerde bulunabilen heterosiklik bileşikler (örneğin, parçalanmış yakıtlardaki karbazoller) veya metalleri (örneğin, akaryakıtlarda ve asfaltta vanadyum ve nikel) ele almaz. Işıklı bozunurluğun bir sonucu olarak belirli poliaromatik hidrokarbonların maruz kalmasının azalması veya fotoaktifleştirmeden kaynaklanan toksisite artışı potansiyeli de bu işlemlerin karmaşıklığı ve sahaya özgü doğası nedeniyle ele alınmaz. Bununla birlikte, bu konular, en azından nitel bir şekilde, durum bazında ele alınabilir.

Genel metodolojinin kapsamı, petrol maddelerindeki hidrokarbon bileşenlerinin oluşturduğu riskleri ele almayı amaçlamaktadır. Bu nedenle, petrol maddelerinin teknik özelliklerini veya performansını değiştirmek için kasıtlı olarak eklenen katkı maddeleri bu metodolojinin kapsamı dışındadır, ancak her durumda, bu maddeler bağımsız risk değerlendirmelerine tabi olacaktır. Benzer şekilde, petrol maddesi kullanımından kaynaklanan reaksiyonlardan (örn. maddedeki hidrokarbon bileşenleri dışındaki yanma yan ürünleri) oluşan ikincil bileşenler hariç tutulur ve diğer AB ve ülke özel düzenlemeler tarafından ele alınır.

Referanslar

Arey S, Nelson R ve Reddy C (2007) Disentangling Oil Weathering Using GCxGC. 1. Chromatogram Analysis (GCxGC Kullanarak Yağ Ayrışmasını Çözme. 1. Kromatogram Analizi). Environ Sci Technol 41:5738-46.

Boogaard P, Dmytrasz B, King D, Waterman S ve Wennington J (2005) AB tehlikeli maddeler direktifine göre petrol maddelerinin sınıflandırılması ve etiketlenmesi (CONCAWE tavsiyeleri - Temmuz 2005), CONCAWE Rapor No. 6/05, Brüksel, Belçika, 176 s.

Penye M, Dmytrasz B, Eadsforth C, King D, Parkerton T ve Toy R (2006) Developing a Generic risk assessment methodology for petroleum products (Petrol ürünleri için genel bir risk değerlendirme metodolojisi geliştirme) - SETAC, Den Hague'de sunulan poster, 2006.

de Wolf W, Canton JH, Deneer JW, Wegman RCC ve Hermens JLM (1988) Quantitative structure-activity relationships and mixture-toxicity studies of alcohols and chlorohydrocarbons: reproducibility of effects on growth and reproduction of *Daphnia magna* (Alkollerin ve klorohidrokarbonların nicel yapı-aktivite ilişkileri ve karışım-toksikite çalışmaları: *Daphnia magna*'nın büyümesi ve çoğalması üzerindeki etkilerin tekrarlanabilirliği). Aquat Toxicol 12:39-49.

Di Toro D, McGrath J ve Stubblefield W (2007) Predicting the toxicity of neat and weathered crude oil: Toxic potential and the toxicity of saturated mixtures (Saf ve bozulmuş ham petrolün toksisitesinin tahmini: Toksik potansiyel ve doymuş karışımların toksisitesi). Environ Toxicol Chem 26:24-36.

Avrupa Komisyonu (2003) Yeni bildirilen maddeler için risk değerlendirmesine ilişkin 93/67/EEC sayılı Komisyon Direktifini Destekleyen Teknik Rehber Doküman ve mevcut maddeler için risk değerlendirmesine ilişkin 1488/94 sayılı komisyon yönetmeliği.

Foster KL, Mackay D, Parkerton TF, Webster E ve Milford L (2005) Five-Stage Environmental Exposure Assessment Strategy for Mixtures: Gasoline as a Case Study, (Karışımlar için Beş Aşamalı Çevresel Maruz Kalma Değerlendirmesi Stratejisi: Vaka Çalışması Olarak Benzin), Environ Sci Technol 39: 2711-8.

Eadsforth C, Forbes S, Dmytrasz B, Comber M ve King D (2006) Application of comprehensive two-dimensional gas chromatography (GCxGC) for the detailed compositional analysis of gas-oils and kerosines (Gaz-yağları ve kerosinlerin ayrıntılı bileşim analizi için kapsamlı iki boyutlu gaz kromatografisinin (GCxGC) uygulaması) - SETAC, Den Hague'de sunulan poster, 2006.

Howard P, Meylan W, Aronson D, Stewart S, Parkerton T ve Comber M (2006) Prediction of Environmental Fate and Transport Properties in Support of the Hydrocarbon Block Approach

to Risk Assessment (Risk Değerlendirmesine Hidrokarbon Blok Yaklaşımını Desteklemede Çevresel Davranış ve Taşımacılık Özelliklerinin Tahmin Edilmesi) - SETAC, Den Hague'de sunulan poster, 2006.

Howard P, Meylan W, Aronson D, Stiteler W, Tunkel J, Comber M ve Parkerton T (2005) A new biodegradation prediction model specific to petroleum hydrocarbons (Petrol hidrokarbonlarına özel yeni bir biyobozunurluk tahmin modeli). *Environ Toxicol Chem* 24:1847-60.

HSPA (2002) AB Tehlikeli Maddeler Direktifi Kapsamında Sucul Çevresel Etkiler için Petrol Çözücü Akımlarının ve İlgili Kompleks Hidrokarbon Çözücülerin Sınıflandırılması, Hidrokarbon Çözücüler Üreticileri Birliği, CEFIC, Brüksel, Belçika, 44 s.

King DJ, Lyne RL, Girling A, Peterson DR, Stephenson R ve Short D (1996) Petrol maddelerinin çevresel risk değerlendirmesi: hidrokarbon blok yöntemi, CONCAWE Rapor No. 96/52, Brüksel, Belçika, 23 s.

MacLeod M, McKone TE, Foster K, Maddalena RL, Parkerton TF ve Mackay D (2004) Applications of Contaminant Fate and Bioaccumulation Models in Assessing Ecological Risks of Chemicals: A Case Study for Gasoline Hydrocarbons (Kimyasalların Ekolojik Risklerini Değerlendirmede Kirletici Davranışı ve Biyobirikim Modellerinin Uygulamaları: Benzin Hidrokarbonları İçin Bir Vaka Çalışması). *Environ Sci Technol* 38:6225-33.

McGrath JA, Parkerton TF ve Di Toro DM (2004) Application of the narcosis target lipid model to algal toxicity and deriving predicted no effect concentrations (Narkoz hedef lipid modelinin alg toksisitesine uygulanması ve öngörülen etki gözlemlenmeyen konsantrasyonunun türetilmesi). *Environ Toxicol Chem* 23:2503-17.

McGrath JA, Parkerton TF, Hellweger FL ve Di Toro DM (2005) Validation of the narcosis target lipid model for petroleum products: gasoline as a case study (Petrol ürünleri için narkoz hedef lipid modelinin doğrulanması: bir vaka çalışması olarak benzin). *Environ Toxicol Chem* 24:2382-94.

McMillen S, Rhodes I, Nakles D ve Sweeney R (2001) Application of the Total Petroleum Hydrocarbon Criteria Working Group Methodology to Crude Oils and Gas Condensates (Toplam Petrol Hidrokarbon Kriterleri Çalışma Grubu Metodolojisinin Ham Yağlar ve Gaz Kondensatlarına Uygulanması), Bölüm 4, s. 58-76, *Kaynak: McMillen S, Magaw R, Carovillano, R (Ed.) Risk Based Decision Making for Assessing Petroleum Impacts at Exploration and Production Sites (Arama ve Üretim Sahalarında Petrol Etkilerinin Değerlendirilmesi için Risk Bazlı Karar Verme)*, Birleşik Devletler Enerji Bakanlığı, Ulusal Enerji Teknolojisi Laboratuvarı, Tulsa, OK, ABD, 239 s.

Redman A (2007) PETROTOX v.1.02 Kullanım Kılavuzu, HydroQual, Inc., Avrupa'da Temiz Hava ve Suyun Korunması için (CONCAWE), 44 s.

Redman A, McGrath J, Febbo E, Parkerton T, Letinski D, Connelly M, Winkelmann D ve DiToro D (2007) Application of the Target Lipid Model for deriving predicted no-effect concentrations for wastewater organisms (Atık su organizmaları için öngörülen etki gözlemlenmeyen konsantrasyonların türetilmesi amacıyla Hedef Lipid Modelinin Uygulanması). *Environ Toxicol Chem* 26:102-12.

Redman A, McGrath J, Parkerton T, Versonnen B ve Di Toro D (2007) Derivation of Soil

Ecotoxicity Guidelines for Petroleum Hydrocarbons Using Target Lipid and Equilibrium Partitioning Models (Hedef Lipid ve Denge Dağılım Modellerini Kullanarak Petrol Hidrokarbonları için Toprak Ekotoksosite Rehberlerinin Türetilmesi), Toprak, Çökelti ve Su Yıllık Uluslararası Konferansında sunulan poster, Massachusetts Üniversitesi, Amherst, MA, ABD.

van de Meent (2007) Environmental fate factors and human intake fractions for exposure and risk calculation of petroleum products with the hydrocarbon block method (Hidrokarbon blok yöntemi ile petrol ürünlerinin maruz kalma ve risk hesaplaması için çevresel davranış faktörleri ve insan alım oranları), taslak rapor # 20071219, Radboud Üniversitesi, Nijmegen, Hollanda, 38 s.

Verhaar HJM, Solbé J, Speksnijder J, van Leeuwen CJ, Hermens JLM (2000) Classifying environmental pollutants: Part 3. External validation of the classification system (Çevresel kirleticileri sınıflandırmak: Bölüm 3: Sınıflandırma sisteminin harici doğrulaması). Chemosphere 40:875-83.

Verbruggen EMJ (2003) Mineral yağ için Çevresel Risk Sınırları (Toplam Petrol Hidrokarbonları), RIVM raporu 601501 021, Bilthoven, Hollanda, 77 s.

Bölüm R.7 için Ek

Ek R.7—1 Toksikolojik Endişe Eşik Değeri (TTC) - toksikolojik ve çevresel risk değerlendirmesinde bir kavram

İnsan Sağlığı Yönü

İnsan sağlığı etkileri için risk değerlendirmesi, genellikle hayvan deneylerinden elde edilen bir maddenin kritik toksikolojik etkisinin eşik değerine dayanmaktadır.

Alternatif olarak, toksikolojik bir eşik değeri, geniş bir yelpazede yapısal olarak ilişkili veya hatta yapısal olarak farklı maddelerin toksikolojik verilerinin istatistiksel analizine ve bu maddeler için temel hayvan deneylerinden elde edilen etki gözlemlenmeyen dozların insan sağlığı için ihmal edilebilir riske sahip olduğu düşünülen seviyelere ekstrapolasyonuna da dayanabilir. Bu ikinci yaklaşım, Toksikolojik Endişe Eşik Değeri (TTC) adı verilen ilkeye atıfta bulunmaktadır. Bu şekilde değerlendirildiğinde, TTC kavramı, bu tür yaklaşımların, çapraz okuma ve kimyasal kategorinin bir uzantısı olarak görülebilir. Bu nedenle, TTC kavramı, düşük düzenleyici endişe arz eden maruz kalma düzeylerini belirlemeye yönelik bir yaklaşım ve hayvan verilerinin oluşturulmasından feragat etmeyi haklı gösteren bir araç olarak, tatlandırıcılar ve gıda ile temas eden makalelerin değerlendirilmesinde ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) ve BM JMPR ve AB EFSA gibi bazı düzenleyici kurumlar tarafından risk değerlendirme süreçlerine dahil edilmiştir (SCF, 2001).

Bu bölümde, farklı TTC yaklaşımlarını, sınırlamalarını, kullanım kriterlerini ve son olarak KKDİK kapsamındaki potansiyel kullanımları kısaca tartışacaktır.

TTC yaklaşımları

TTC, 1995 yılından beri FDA tarafından gıda ile temas eden malzemelerde *Düzenleme Eşiği* olarak uygulanmaktadır; kanserojenliği kapsayan kimyasal bir veri tabanı için kişi başına günde 1.5 µg'lik bir TTC değeri türetilmiştir (yani, hesaplanan milyonda bir risk seviyesi; Gold ve ark., 1995). Bu değer, genotoksik kanserojenler hariç tüm sonlanma noktaları için geçerli olduğu düşünülmektedir.

Munro ve ark. (1996) sonrasında, başlangıçta Cramer ve ark. tarafından oluşturulan ilkeler üzerinde yapı temelli bir TTC yaklaşımı geliştirmiştir (1978). Analiz edilen organik maddelerin yapısal sınıfları, subkronik, kronik ve üreme etkileri için NOEL değerlerinin önemli ölçüde farklı dağılımlarını göstermiştir. Kanserijen veya mutajenik sonlanma noktaları dikkate alınmamıştır. Toksikite bilgileriyle birlikte kimyasal yapıya dayalı olarak üç farklı seviye (sırasıyla, kişi başına günde 90, 540 ve 1800 µg) türetilmiştir. BM-JMPR ve AB EFSA, dolaylı gıda katkı maddeleri düzenlemelerinde bu değerleri uygulamıştır.

Cheeseman ve ark. (1999) tarafından geliştirilen bir başka yapı temelli, kademeli TTC kavramı, Munro ve ark. (1996) çalışmasının 3 sınıf yaklaşımını, dahil edilen akut ve kısa süreli toksisite, mutajenik ve kanserojen etki gücü halinde (ancak yüksek etki gücü olanları hariç tutarak) uzatmıştır.

Son zamanlarda, Kroes ve ark. (2004) nörotoksikite ve immünotoksikite dahil olmak üzere farklı toksikolojik sonlanma noktaları için uygulanabilirliği değerlendirmiş ve 6 sınıf organik madde içeren bir karar ağacı önermiştir.

Alerjenler veya aşırı hassasiyete neden olan maddeler, uygun bir veri tabanının (bu madde kategorisi için istatistiksel analiz yapılmasına olanak sağlayan) bulunmaması nedeniyle barındırılmamıştır.

Belirtilen iki durum dışında, diğer yaklaşımlar herhangi bir düzenleyici kurum tarafından benimsenmemiştir.

Son zamanlarda, ECETOC, REACH için çok çeşitli organik ve organik olmayan maddeler (uçucu ve uçucu olmayan) için bir dizi eşik değeri, yani Genel Maruz Kalma Değeri (GEV) ve akut ve tekrarlı doz toksisitesi için Genel En Düşük Maruz Kalma Değeri (GLEV) içeren bir Hedefli Risk Değerlendirmesi yaklaşımı önermiştir (ECETOC, 2004). Kategori 1 ve 1B kanserojenler, mutajenler ve üreme sistemine toksik maddeler hariç tutulmuştur. GEV, bazı en katı Mesleki Maruz Kalma Sınır Değerlerinden (OEL) türetilen mesleki maruz kalma (ve türetilmiş dermal değerler) için genel bir eşik değeridir. GLEV, tekrarlı doz toksisitesi ve ekstrapolasyon faktörleri için sınıflandırma kriterlerine dayanmaktadır. GEV değerlerinin türetilmesinin mevcut yayınlanmış mesleki maruz kalma seviyelerinin bir analizine dayandığı ve bu nedenle toksikolojik sonlanma noktalarına uygulanan değerlendirme faktörlerine ve OEL değerlerinin dayandığı diğer verilere ek olarak sosyoekonomik ve teknik savunmaları da içerdiği belirtilmektedir. Bu yaklaşım, yasal kurumlar tarafından uzman incelemesinden geçmemiş ve kabul görmemiştir.

Temel gereklilikler

Yukarıda tartışılan TTC kavramı, başarılı bir şekilde uygulanabilmesi için minimum bir bilgi seti gerektirir. Bununla birlikte, TTC uygulanmasının, aşağıdakiler de dahil olmak üzere belirli yapısal öğelere ve özelliklere sahip maddeleri kapsamadığı unutulmamalıdır:

- Gerekli (esansiyel) olmayan, ağır metaller ve polihalojenlenmiş dibenzodioxinler, - dibenzofuranlar veya bifeniller ve benzeri maddeler:
Bu madde sınıfı, biyobirikim özellikleri nedeniyle TTC kavramları tarafından ele alınamaz. TTC yaklaşımı, biyobirikim potansiyeline sahip diğer madde kategorilerini düzenleyebilse de, yasal bağlamda, biyobirikim potansiyeli olan maddeler "endişe kaynağı" olarak önem arz eder ve duruma göre değerlendirilmesi gerekir. Potansiyel olarak biyobirikim yapan veya kalıcı maddeler de varsayılan çevresel risk değerlendirmelerinin dışında tutulur.
- Genotoksik kanserojenler:
Tahmini alım yeterince düşükse (<0.15 µg/gün) bazı kanserojenlerin TTC kavramında ele alınabilmesine rağmen, genotoksik kanserojenler için durum bazında bir risk değerlendirmesi gereklidir.
- Organofosfatlar:
Bu yüksek etki gücüne sahip nörotoksik maddeler sınıfı hariç tutulmuştur.
- Proteinler:
Bu madde sınıfı, özellikle potansiyel (oral) hassasiyet, aşırı hassasiyet ve intoleransları ele almak için bir vekildir. Bu tür bir sonlanma noktası için genel bir eşik değerin türetilmesine izin veren uygun veritabanları yoktur.

İlave olarak, bir başka kritik kriter, maddenin taşınması ve kullanımına ilişkin bilgilerle ilgilidir.

TTC, yalnızca risk değerlendirmesinin sağlandığı tüm beklenen kullanımlar ve kullanım senaryoları hakkında ayrıntılı bilgilerin mevcut olması durumunda geçerlidir.

Sınırlamalar

Toksikolojik endişe eşik değerinin birkaç sınırlaması vardır. Her şeyden önce, esas olarak oral maruz kalmadan kaynaklanan sistemik etkileri kapsayan veri tabanlarından türetilirler. Bu, özellikle solunum veya deri maruz kalmasının ana teması olduğu mesleki durumlar için önemlidir. Yalnızca bazıları mutajenik, kanserojen ve akut etkileri kapsar ve gerçekte hiçbir (önerilen ECETOC yaklaşımı dışında) tahriş ve hassasiyet gibi yerel etkileri ele almaz.

Tüm TTC yaklaşımları (önerilen ECETOC yaklaşımı hariç) temel yol olarak oral maruz kalmaya sahip olduğundan, herhangi bir uygulama gerçekçi hale gelmeden önce, solunum ve cilt teması maruz kalma yolları için potansiyel kullanımını keşfetmek için daha fazla önemli çabaya ihtiyaç vardır.

Toksikolojik endişe eşik değerine yönelik yapısal temelli yaklaşımların birçoğunun uygulanabilirlik alanında sınırlamaları vardır ve her kimyasal sınıfı barındıramaz. Örneğin, proteinler, ağır metaller, polihalojenli-dibenzodiyoksinler, aflatoxin benzeri maddeler, N-nitroso- bileşikler, alfa-nitro furil bileşikler ve hidrazinler-, triazenler-, azidler- ve azoksi-bileşikler Kroes ve ark. (2004) yaklaşımı tarafından hariç tutulmuştur. Ayrıca, oldukça güçlü nörotoksik maddeler, organofosfatlar ve genotoksik kanserojenler de hariç tutulmuştur.

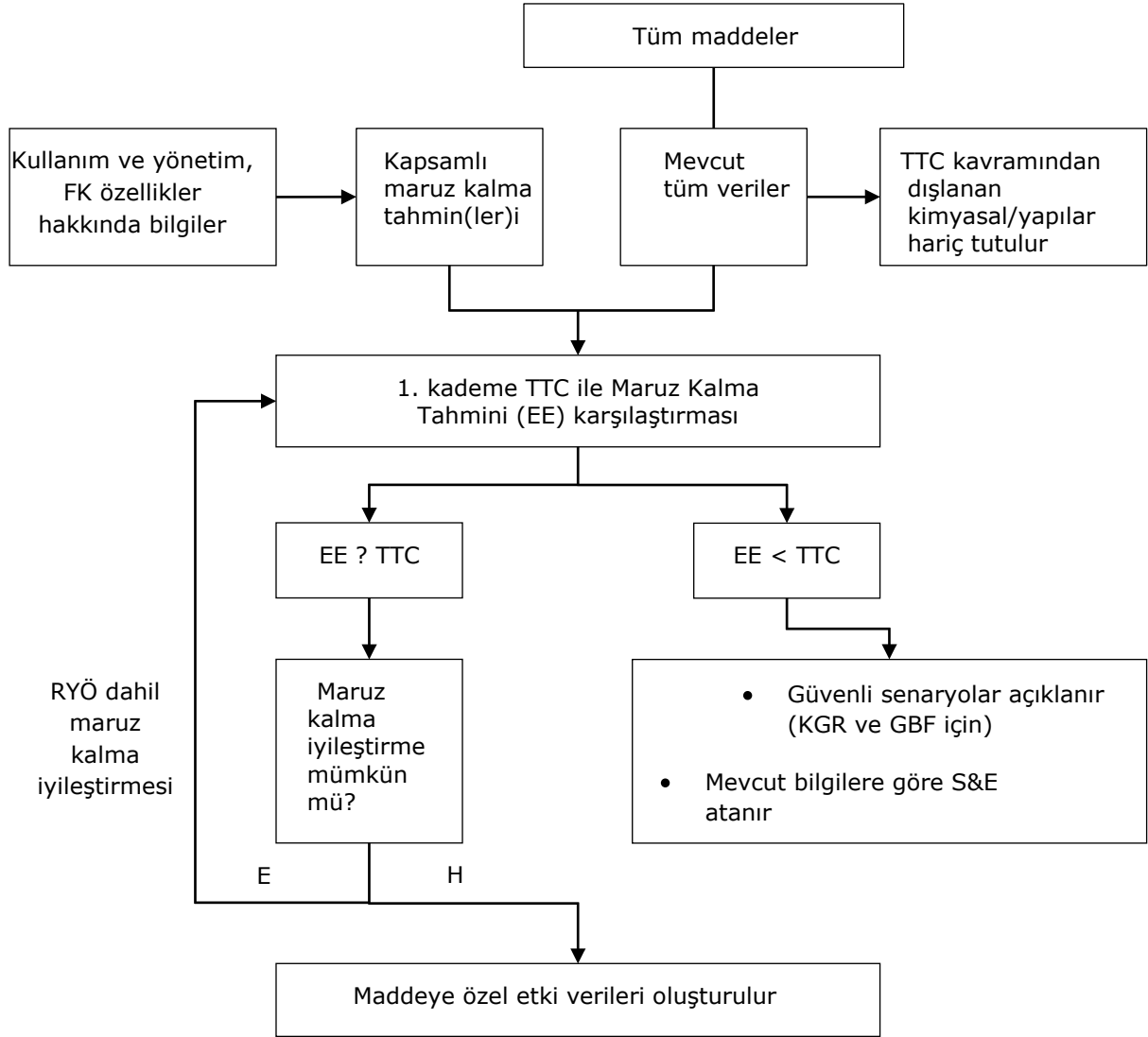
Belirtildiği gibi, TTC yaklaşımı yalnızca risk değerlendirmesinin sağlandığı tüm beklenen kullanımlar ve kullanım senaryoları hakkında ayrıntılı bilgilerin mevcut olması durumunda uygulanabilir. Mevcut Maddelere Yönelik AB Risk Değerlendirme Programı deneyimlerine dayanılarak, kapsamlı maruz kalma tahminleri, kullanımların iyi karakterize edildiği durumlarda bile önemli bir çaba gerektirecektir. Çok sayıda (dağılımlı) kullanım ve uygulama olması durumunda, TTC kavramına dayalı eşiklere dayanan bir risk değerlendirmesinde kullanım için gerekli olan ayrıntılı ve hassas bir genel maruz kalma tahmini oluşturmak mümkün olmayabilir. Bu nedenle, TTC uygulamada sadece iyi karakterizasyona izin veren az sayıda maruz kalma senaryosunun olduğu durumlarda geçerli olacaktır.

Ayrıca, TTC yaklaşımının kullanımı, bir maddenin sınıflandırılması ve etiketlenmesi veya belirli bir etki için etki gücü hakkında bilgi sağlamaz.

TTC kavramının kullanımı

TTC kavramı, öncelikle bir risk değerlendirme çerçevesi içinde kullanılmak üzere geliştirilmiştir. Daha önce belirtildiği gibi, TTC kavramı ABD FDA ve AB EFSA ve BM JMPR tarafından sırasıyla gıda ile temas eden ürünlerin ve tatlandırıcıların değerlendirilmesinde yasal amaçlar için uygulanmaktadır. Bu özel TTC yaklaşımları, bu düzenleyici platformda kabul edilmeden önce eleştirel bir incelemeden geçmiştir. Açıkça, aynı şekilde, başka herhangi bir TTC yaklaşımı, kullanımdan önce ilgili yasal kurum tarafından kararlaştırılmalı ve hangi sonlanma noktaları, yollar ve nüfus için geçerli oldukları açıkça belirtilmelidir.

Şekil R.7.13—1 KKDİK kapsamında genel TTC şeması/kavramı.



Şekil, toksikolojik endişe eşik değerinin nasıl kullanılabileceğini göstermektedir: herhangi bir maddeye özel testten önce gelir. Bir kademe gösterilmektedir, ancak ilgili maddeye dayalı olarak (Kroes ve ark., 2004 tarafından sunulan yaklaşımla açıkça gösterildiği gibi) ek kademelendirme turları uygulanabilir.

KKDİK içinde potansiyel kullanım

KKDİK kapsamında TTC kavramının, tekrarlı doz toksisitesi ve/veya üreme hakkında sınırlı bilgi gerektiren tonaj seviyelerinde kimyasal güvenlik değerlendirmesi için kullanılabilir olması mümkündür: KKDİK test dışı yöntemlere olan ihtiyacı açıkça belirtir ve maruz kalma hususlarına göre testten feragat etme fırsatı sunar. Açıkça belgelendiğinde ve gerekçelendirildiğinde aşağıdaki seçenekler geçerli olabilir.

KKDİK Ek 7

Ek 7'de belirtilen test gereklilikleri normalde tekrarlı maruz kalmaları içeren toksisite testini tetiklemeyecektir ve bu tonaj seviyesindeki bilgiler, tekrarlı maruz kalmayla ilişkili insan sağlığı riskleri değerlendirmesinde kullanılmak üzere DNEL türetilmesi için bir doz tanımlayıcı veya başka bir başlangıç noktasını belirlemek üzere yetersiz bilgi sağlar. Test dışı veya *in vitro* metodolojiler bir maddenin toksikolojik özellikleri hakkında fikir verebilse de, genellikle bu tür yöntemler, bir olumsuz etkinin etki gücü ve/veya eşik değeri hakkında niceliksel bilgi sağlamak üzere yeterince özel değildir. Böyle bir durumda TTC metodolojisinden türetilen eşik, insan maruz kalmasının önemini değerlendirmek için bir referans değeri sağlayabilir.

KKDİK Ek 8-10

Bu tonaj seviyelerinde, tekrarlı doz toksisitesi çalışmasından feragat edilmesine ve sonuç olarak maddeye özel doz tanımlayıcı veya DNEL türetilmesi için başka bir başlangıç noktasının oluşturulmasına yol açabilecek KKDİK gerekliliklerinin uyarlanmasını tetikleyen koşullar olabilir:

- Ek 8'de, eğer ilgili insan maruz kalması Ek 11 Bölüm 3'e göre hariç tutulabilirse tekrarlı doz toksisitesi (28 günlük test, 8.6) ve üreme sistemi toksisitesi testinden (8.7) feragat edilebilir .
- Ek 9 ve 10'daki testler, önemli bir maruz kalma olmaması, düşük toksisite ve sistemik maruz kalma olmaması durumunda feragat edilebilir.

Durum bazında değerlendirmede, ilgili yasal kurum tarafından kararlaştırılan TTC metodolojilerinden türetilen uygun eşik değer, insan maruz kalmasının önemini değerlendirmek için bir başlangıç noktası olarak kabul edilebilir. Yeterli koruma düzeyini sağlamak için seçilen düzey kritik olacaktır.

Son notlar

Endüstriyel kimyasalların risk değerlendirmesinde kullanılan yaklaşımdan bağımsız olarak, yeterli düzeyde koruma sağlamak önemlidir. Hayvan deneylerine alternatif arayışında önerilen bir yaklaşım, genel eşik değerlerinin kullanılmasıdır. Ancak, toksikolojik endişe eşik değerinin uygulanması, sınırlı verinin üretilebileceği ve dolayısıyla koruma seviyesinin etkilenebileceği anlamına gelecektir. Beslenmedeki tatlandırıcı maddeler hakkındaki bilgilerden, genel toksisite ve incelenen belirli sonlanma noktaları açısından TTC kavramı makul görünmektedir. Ancak, toksikolojik endişe eşik değerinin endüstriyel kimyasallar üzerindeki olası uygulamasının dikkatlice değerlendirilmesi gerekir. Endüstriyel kimyasallar ve gıda ile temas eden ürünler veya tatlandırıcılar için kullanılan maddeler arasında, kullanım düzeni ve bileşimindeki farklılıklar gibi bazı önemli farklılıklar olabilir (daha fazla tartışma için bkz. Tema Nord, 2005; COC, 2004).

Çevre için TTC kavramı*

İki yaklaşım

Çevre için bir TTC türetilirken iki farklı yaklaşım kullanılmıştır, bunlar EMEA/CPMP (2001) tarafından önerilen etki sınırı ve ECETOC (2004) ve de Wolf ve ark. (2005) tarafından önerilen çevresel Endişe Arz Etmeyen Maruz Kalma Eşiğidir (ETNC). Her iki yaklaşım da pelajik tatlı su ortamıyla sınırlıdır.

1. Bu TTC yaklaşımlarından ilki, yani etki sınırının kökeni, kademeli bir risk değerlendirme sürecini açıklayan şekilde beşeri ilaçların çevresel risk değerlendirmesine ilişkin bir taslaktır (EMEA/CPMP, 2001). İlk adım, farmasötik bileşen veya ana metabolitleri için kabaca tahmin edilen çevresel tatlı su konsantrasyonunun (PEC) bir etki sınırıyla (0.01 µg/L) karşılaştırıldığı bir çevresel maruz kalma değerlendirmesidir. PEC değerinin etki sınırından daha küçük olması ve çevresel endişelerin belirgin olmaması durumunda, başka bir eyleme ihtiyaç duyulmaz. Öte yandan, PEC etki sınırından daha büyük olduğunda, değerlendirme, çevresel bir davranış ve etki analizi içeren ikinci bir aşamaya devam eder. Etki sınırı, altında ilgili standart test organizmaları için ilaçlar hakkında hiçbir ekotoksikite verisinin rapor edilmediği sonucuna varıldığı sucul konsantrasyona dayanmaktadır (ABD FDA, 1996). Bu konsantrasyon, etki sınırını elde etmek için değerlendirme faktörü olarak 100'e bölünmüştür. Daha düşük etki konsantrasyonlarına sahip ilaçlar bulunduğundan, etki sınırı CSTE tarafından sorgulanmıştır. İlave olarak, kronik toksisitenin bu tür maddeler, yani farmasötikler için daha uygun olduğu düşünüldüğünden, taslakta akut toksisiteye odaklanma sorgulanmıştır.
2. Pelajik tatlı su ortamı için ETNC (yani ETNCsucul) türeten farklı bir TTC yaklaşımı uygulanmıştır (ECETOC, 2004; de Wolf ve ark., 2005). Bu yaklaşım, tatlı su ortamındaki organizmalar için mevcut toksikolojik veri tabanlarına ve madde zararlılık değerlendirmelerine ve Verhaar ve ark. (1992) sistemine göre maddelerin dört farklı etki şekline (MOA) sınıflandırılmasına dayanmıştır. Katmanlandırılmış veriler, %50 güven aralığı ile beşinci yüzdilik dilimin belirlendiği bir lognormal dağılıma eğri (grafik) oluşturmuştur. Bu değer daha sonra ETNCsucul elde etmek için verilere bağlı olarak 1 ile 1000 arasında değişen bir değerlendirme faktörüne bölünmüştür. Metaller, inorganikler ve iyonlaşabilen organik maddeler bu sistem tarafından kapsamaz ve bu nedenle ETNCsucul türetilirken dahil edilmez.

Yazarlar, etki şekli 1-3 için 0.1 µg/L'lik bir genel değer önermişlerdir. Yazarlar, ETNCsucul kavramının geniş bir uygulamasının etki şekli 4'ü de kapsamı gerektiğini ve ortaya çıkan ETNCsucul değerinin muhtemelen çok daha düşük olması gerektiğini düşünmüştür. Bu fikir, sonuçta ortaya çıkan ETNCsucul, MOA4 0.0004 µg/l olduğu için, MOA4 atanan maddeler analiz edilirken önemli ölçüde daha düşük bir ETNCsucul gözlenmesi gerçeğiyle doğrulanmaktadır.

* TemaNord 2005: 559 uyarınca.

Söz konusu veri tabanındaki en düşük bireysel NOEC değeri 0.0006 µg/l (Fenthion) olmuştur.

Yasal kullanım

Şu anda, çevresel değerlendirmelerle ilgili olarak TTC kavramının hiçbir kullanımı yoktur. Bununla birlikte, EMEA/CPMP (2001, 2005) tarafından hazırlanan bir taslakta, ilaçların (insan kullanımı için) çevresel risk değerlendirmesi için aşamalı, kademeli bir prosedür önerilmektedir. Bu yaklaşım, pelajik tatlı su ortamında 0.01 µg/l'lik bir etki sınırı içerdiğinden, bir TTC yaklaşımını içerecektir.

ETNC bir risk değerlendirme aracı olarak kabul edilebilir ve sınıflandırma veya PBT değerlendirmesi için yine de verilere ihtiyaç duyulabilir. Genel olarak, akut toksisite verileri mevcut/tahmin edilebilir olacaktır ve ortaya çıkan PNEC genellikle ETNC değerinin üzerinde olacaktır. Daha düşükse, madde daha derinlemesine düşünülmelidir.

Tartışma

TTC kavramı, standart maddeye özel PNEC ile karşılaştırıldığında tüm bir madde grubuna uygulanması amaçlanan genel bir PNEC (etki gözlemlenmeyen bir eşik değeri) ile sonuçlandığından çevresel risk değerlendirmelerine ilişkin yeni bir yaklaşımı temsil eder.

TTC yaklaşımı, yalnızca pelajik tatlı su ekosistemi üzerindeki doğrudan etkiler için geliştirilmiştir ve biyobirikim veya diğer ortamlardaki birikimden kaynaklanan etkiler için geliştirilmemiştir. İlave olarak, kavram, metalleri, diğer inorganik bileşikler veya iyonlaşabilen organik bileşikler kapsamaz. Deneysel verilerle karşılaştırıldığında, toksikolojik endişe gözlemlenmeyen eşik değerinin kullanılması, bozunma ürünlerinin/metabolitlerinin toksisitesini dikkate almama riskinin daha yüksek olduğu anlamına gelir; bu, ana bileşikten daha toksik olmaları durumunda kötü olabilir.

De Wolf ve ark., 2005 tarafından, test/ileri risk değerlendirmesi için maddeleri seçmek/önceliklendirmek için bir tarama aracı olarak TTC kavramının kullanılması önerilmiştir, örneğin alt kullanıcıları, kendi özel kullanımları ile ilgili bağıl risk hakkında bilgilendirmeye yardımcı olabilir. Yaklaşım, çevresel izleme verilerini risk değerlendirme açısından değerlendirmede de değerli olabilir. Bu uygulamalar için, TTC tatmin edici ölçüde belirlenirse kavram işe yarayabilir. Ancak sadece toksisite düşünüldüğünden, P ve B kriterlerine de başvurulmalıdır. TTC yaklaşımını kullanmanın ana nedeni, omurgalı türleri (çoğunlukla balıklar) dahil olmak üzere suda yaşayan tatlı su test organizmalarının kurtarılması olacaktır.

En hassas türler için NOEC ve bir değerlendirme faktörü kullanarak bir PNEC türetme yöntemi, bir madde için bir eşik değeri, yani Öngörülen Etki Gözlemlenmeyen Konsantrasyon (PNEC) elde etmek için Teknik Rehber Dokümandaki standart yaklaşımdır.

En hassas türler için NOEC kullanmak yerine, bazı veri açısından zengin maddeler için (örneğin Mevcut Maddeler Yönetmeliğindeki Zn), NOEC türetmek amacıyla tüm şubelerden (filum) tüm türlerin 5. yüzdilik dilim ve lognormal dağılımının kullanılması kabul edilmiştir. Bunun nedeni, veri açısından zengin metaller için Teknik Rehber Dokümana göre geleneksel PNEC türetme yönteminin PNEC değerlerinin temel değerlerinin altında olmasına neden olmasıdır. Bu durumlarda, bir madde için toksisite eşiği (PNEC) elde etmek amacıyla bir dizi tür ve filum için ekotoksisite verileri kullanılmıştır. Bu, değerlendirme faktörü yerine birçok madde için (tanımlanmış bir gruba ait olan) pek çok tür için toksisite verilerinin beşinci yüzdilik diliminin kullanıldığı ETNCsücul (TTC) yaklaşımından farklıdır.

İlk durumda, kavram tür NOEC değerlerinin %5'inin eşik değer altına düşeceğini kabul eder. İkinci durumda, kavram, madde PNEC değerlerinin %5'inin eşik değer altına düşeceğini kabul eder. Bu iki durumda çevre için güvenlik seviyesi benzer midir? Sonuçlar daha ayrıntılı değerlendirilmelidir.

Maddeye özel deneysel toksisite verisi bulunmadığında, (Q)SAR tahminlerine kıyasla genel bir PNEC değeri kullanmanın kattığı değer nedir? Verhaar ve ark. (1992) tarafından etki şekli 1-2 olarak tanımlananlara ilişkin, daha özel verilere dayanan ve genel bir TTC değerinden daha alakalı olması gereken mevcut QSAR modelleri mevcuttur. Ancak, nicel yapı aktivite ilişkilerinin genellikle bir etkinin göstergesi olarak kullanıldığı ve etki bulunmadığının doğrulanması için kullanılmadığı vurgulanmalıdır (bu, TTC değeri için kullanım önerilerinin tam tersidir!).

TTC kavramı kullanılacaksa, bir veya birkaç eşik değeri kullanılmalı mı? Birden fazla eşik değeri kullanmak, yanlış (güvenli olmayan) eşik değeri kullanma riskinin daha yüksek olduğu anlamına gelir. Birkaç eşik değerinin kullanılması, kategorizasyon sistemine daha yüksek talepler getirir. Maddeler farklı sistemlere göre kategorize edilebilir. Bu alandaki bilginin yıllar içinde artmaya devam ettiği göz önüne alındığında, Verhaar ve ark. (1992) tarafından on üç yıl önce gösterilen, ECETOC (2004) ve de Wolf ve ark. (2005) tarafından önerilen yaklaşım, TTC üretmek için şu anda maddeleri gruplamanın en uygun yolu mudur? Bu yöntem, maddeler arasında ayırım yapmak için dört toksik etki şekli kullanır. Bir maddenin bu üç etki şeklinden ilkinin sergilediğini kategorize edecek kurallar mevcut olsa da, belirli yapısal kurallara dayanarak, bir maddenin bu şekillerden dördüncüsünü sergileyip sergilemeyeceğine karar vermek mümkün değildir. Bu dördüncü sınıfa dahil edilme, maddelerin (gruplarının) toksik etki şekli hakkındaki özel bilgilere dayanmalıdır ve dayanması gerekir. İlave olarak, bir maddenin birden fazla etki şekli olabilir.

Bu nedenle, yalnızca bir eşik değer kullanılması en şeffaf ve koruyucu yaklaşım gibi görünmektedir. Yukarıdakilerin bir sonucu olarak, bu eşik değerini en toksik maddeler, yani özel bir toksik etki şekline sahip olarak kategorize edilenler için kronik toksisite verilerine dayandırmak makul görünmektedir.

TTC şu anda bağımsız bir kavram olarak kullanılamamaktadır, ancak gelecekte olası istisnalara karar verirken bir *Kanıt Ağırlığı* yaklaşımına dahil edilebilir.

Referanslar

Bitsch A, Wahnschaffe U, Simetska N, Mangelsdorf I. 2003. Tekrarlı doz toksisitesi için yapı aktivite ilişkisinin (SAR) uyarılarının (fonksiyonel grupların kombinasyonları) tanımlanması. CEFIC LRI Raporu. Fraunhofer Toksikoloji ve Deneysel Tıp Enstitüsü, Almanya.

Cheeseman ve ark., 1999. A tiered approach to threshold of regulation (Düzenleme eşikğine kademeli bir yaklaşım). Food and Chemical Toxicology 37, 387-412.

COC, (Kimyasalların Gıda, Tüketici Ürünleri ve Çevrede Kanserojenitesi Komitesi) Kimyasal Kanserojenlerin Risk Değerlendirmesine Yönelik Strateji Rehberi, 2004

Cramer ve ark., 1978. Estimation of toxic hazard: A decision tree approach (Toksik zararlılık tahmini: Karar ağacı yaklaşımı). Food and Cosmetic Toxicology 16, 255-276.

CSTEE (2001) "Beşeri Kullanıma Yönelik [Genetiği Değiştirilmiş Organizma İçermeyen (GDO'suz)] Tıbbi Ürünlerin Çevresel Risk Değerlendirmesine İlişkin Taslak CPMP Tartışma Belgesi Hakkında Görüş", Avrupa Birliği, Brüksel, Belçika. http://europa.eu.int/comm/food/fs/sc/sct/out111_en.pdf

De Wolf, W., Siebel-Sauer, A., Lecloux, A., Koch, V., Holt, M., Feijtel, T., Comber, M., and Boeije, G. (2005) "Mode of action and aquatic exposure thresholds of no concern" ("Etki şekli ve endişe arz etmeyen sucul maruz kalma eşikleri", Environ Toxicol Chem, cilt. 42(2), s. 479-484.

ECETOC (2004) "Hedefli risk değerlendirmesi", Teknik Rapor No. 93. Avrupa Kimyasallar Toksikoloji ve Ekotoksikoloji Merkezi (ECOTOC), Brüksel, Belçika.

EMA/CPMP (2001) "Genetiği Değiştirilmemiş Organizma İçermeyen (GDO'suz) Beşeri Kullanıma Yönelik Tıbbi Ürünlerin Çevresel Risk Değerlendirmesine İlişkin Taslak CPMP Tartışma Belgesi",

EMA / CPMP (2005) "Beşeri Kullanıma Yönelik Tıbbi Ürünlerin Çevresel Risk Değerlendirmesine İlişkin Taslak Rehber", Londra, 20 Ocak 2005. CPMP/SWP/4447/00 taslak. <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/swp/444700en.pdf>

Gold ve ark., 1984. A carcinogenesis potency database of standardized results of animal bioassays (Hayvan biyoanalizlerinin standartlaştırılmış sonuçlarının kanserojenite etki gücü veritabanı). Environmental Health Perspectives 58, 9-319.

Gold ve ark., 1995. Sixth plot of the carcinogenic potency database: Results of animal bioassays published in the general literature 1989-1990 and by the National Toxicology Program through 1990-1993 (Kanserojen etki gücü veri tabanının altıncı grafiği: Genel literatürde 1989-1990 yılları arasında ve Ulusal Toksikoloji Programı tarafından 1990-1993 yılları arasında yayınlanan hayvan biyoanalizlerinin sonuçları). Environmental Health Perspectives 103 (Ek 8), 3-122.

Kroes, R., ve ark., 2004. Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): guidance for application to substances present at low levels in the diet (Yapı temelli toksikolojik endişe eşik değerleri (TTC): beslenmede düşük seviyelerde bulunan maddelerle uygulama için rehber). Food and Chemical Toxicology 41, 65-83

Munro ve ark., 1996. Correlation of structural class with no-observed-effect levels: A proposal for establishing a threshold of concern (Yapısal sınıfın etki gözlemlenmeyen seviyeleri ile ilişkisi: Endişe eşik değeri belirlenmesi için bir teklif). Food and Chemical Toxicology 34, 829- 867.

SCF, 2001. Gıda Bilimsel Komitesi: Gıda ile temas eden malzemelerde kullanılacak bir maddenin güvenlik değerlendirmeleri için onayından önce başvurunun sunulmasına ilişkin Gıda Bilimsel Komitesi Rehberi. Avrupa Komisyonu, Brüksel.

TemaNord 2005: 559. Threshold of Toxicological Concern (TTC), Literature review and applicability (Toksikolojik Endişe Eşik Değeri (TTC), Literatür incelemesi ve uygulanabilirlik). ISBN 92-893-1196-7

ABD FDA (1996) "Çevresel değerlendirmelerde sunulan ekotoksikite verilerinin geriye dönük incelemesi. İlaç değerlendirme ve araştırma merkezi, Gıda ve İlaç Dairesi ", Halka açık erişim için, Belge No. 96N-0057.

Verhaar, H.J.M., van Leeuwen, C.J. ve Hermens, J.L.M. (1992) "Classifying environmental pollutants. Part1: Structure-activity relationships for prediction of aquatic toxicity" ("Çevre kirleticilerinin sınıflandırılması. Part1: Sucul toksisitenin tahmini için yapı-aktivite ilişkileri"), Chemosphere, cilt. 25, sayfa 471-491.

Bilgi Gereklilikleri ve Kimyasal Güvenlik Değerlendirmesi Rehberi
Bölüm R7c Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli
nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R7-2

Şubat 2021

BELGENİN TARİHÇESİ

Versiyon	Değişiklikler	Tarih
Versiyon 1	İlk baskı	Nisan 2012
Versiyon 2.0	<ul style="list-style-type: none">Nanomalzemelerden feragat edilebilmesine ilişkin bir temel olarak K_{ow} genel sınırlamalarının açıklanabilmesi ve mevcut OECD rehberlerinin uygulanabilirliğine ilişkin tavsiye sağlanabilmesi için sucul biyobirikim ile ilgili 1.1.1 bölümünün güncellenmesi.Ekleme yöntemleri ve farklı ölçümlerin kullanımına ilişkin tavsiye sağlanabilmesi için karasal organizmalar üzerindeki etkiler ile ilgili 1.1.2 bölümünün güncellenmesi. <p>Lütfen bölümlerin ve alt bölümlerin numaralandırmasının Versiyon 1'den farklı olduğuna dikkat ediniz, yukarıdaki bölümlerin numaraları, Versiyon 2.0'da (ileride) kullanılan rehberin güncellenmiş numaralandırmasına atıfta bulunmaktadır.</p>	Mayıs 2017

ÖNSÖZ

Kayıt ettirenlere, "nanoformları"¹ kapsayan KKDİK kayıt dosyalarını hazırlarken kullanılmak üzere tavsiye sağlamak için bilgi gerekliliklerine ilişkin üç ek (BG ve KGD Rehberi Bölümleri R7a, R7b ve R7c ekleri) geliştirilmiştir.

Bu belgede verilen tavsiyeler, nanomalzeme olan malzemelerin test edilmesine yönelik özel önerilere odaklanmaktadır². Sağlanan tavsiyenin bir kısmı tamamen nanomalzemelere özgü değildir ve diğer tanecikli malzemeler (yani, çözünme hızı ilgili) için de geçerli olabilir. Bununla birlikte, bu tür bir tavsiye dahil edildiğinde, kapsanan konunun özellikle nanomalzemeler ile ilgili olduğu ve nanomalzemelere özgü rehberin bir parçası olması gerektiğinin düşünülmesidir.

Herhangi bir uygun özel hükmün yokluğunda (halihazırda sağlanan rehberin nanomalzemeler için eşit derecede geçerli olduğu düşünüldüğünde sonlanma noktasının nanomalzemeler için ilgili olmaması ya da tavsiyenin geliştirilmesinden önce daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulması sebebiyle) bu eke sonlanma noktası için ilave bir rehber dahil edilmemiştir.

Bu ek, nanomalzemelere özel tavsiyeler sağlamayı amaçlamaktadır ve Bölüm R.7c'de (ana rehber) verilen genel ilkelerin uygulanabilirliğini engellemez. Ayrıca, bu ekte belirli bir sonlanma noktası için herhangi bir tavsiye verilmemişse ana Rehberde verilen tavsiyelere uyulmalıdır.

Lütfen bu belgenin (ve ana rehberin) KKDİK Yönetmeliği Ek 6 - Ek 11'de belirtilen bilgi gerekliliklerinin karşılanması konusunda özel rehberlik sağladığını unutmayınız.

Mevcut bilgilerin toplanması ve değerlendirilmesi ile bilgi gerekliliklerinin uyarlanması gibi bilgi gerekliliklerini karşılamaya yönelik genel bilgiler, BG & KGD Rehberi, Bölüm R.2 ila R.5'te mevcuttur.

Ayrıca, mevcut olan verilerin kullanımı dikkate alındığında *Nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R.6-1: Nicel Yapı-Aktivite İlişkileri ve Kimyasalların Gruplandırılmasına İlişkin Rehber* [1], aynı maddenin nanoformları (ve nanoformu olmayan maddeler) arasında zararlılık verilerinin kullanımının nasıl gerekçelendirileceğine dair bir yaklaşım sağlaması sebebiyle yararlı olabilir.

¹ Lütfen bkz. *Nanoformları kapsayan kayıt dosyaları nasıl hazırlanır: en iyi uygulamalar* [21]

² Bkz. Avrupa Komisyonu tarafından benimsenen [Nanomalzeme tanımına ilişkin tavsiyeler](#).

İçindekiler

1	NANOMALZEMELER İÇİN EKOTOKSİKOLOJİK SONLANMA NOKTALARINA İLİŞKİN TAVSİYELER:.....	286
1.1	Sonlanma noktaları için özel tavsiye.....	286
1.1.1	Sucul biyobirikim.....	286
1.1.1.1	Test dışı veriler.....	286
1.1.1.2	Sucul biyobirikim için <i>in vivo</i> testler.....	286
1.1.2	Karasal organizmalar üzerindeki etkiler.....	287
1.1.2.1	Test dışı veriler.....	287
1.1.2.2	Test verileri.....	288
Bölüm R.7c, Ek R7-2.....		289
2.1.3	Toksikokinetiğe ilişkin rehber.....	289
REFERANSLAR.....		291

1 NANOMALZEMELER İÇİN EKOTOKSİKOLOJİK SONLANMA NOKTALARINA İLİŞKİN TAVSİYELER:

1.1 Sonlanma noktaları için özel tavsiye

Bu rehber tarafından sağlanan sonlanma noktasına özel tavsiye takip edilirken, lütfen *ÇSB Rehberi R.7.a, Ek R7-1*, Bölüm 2.1.1'de sağlanan numune hazırlama ile ilgili tavsiye ile *ÇSB Rehberi R.7.b, Ek R7-1*, Bölüm 1.1'de sağlanan ekotoksosite ve davranış testine ilişkin genel tavsiyenin bu rehber için de geçerli olduğunu göz önünde bulundurunuz.

1.1.1 Sucul biyobirikim

Ana rehber, Bölüm R.7.10.2, sucul biyobirikime ilişkin KKDİK Yönetmeliği'nin Ek 9'undaki bilgi gerekliliklerini ve ölçülen verilerin mevcut olmadığı durumlarda alternatif bilgilerin kullanımını açıklamaktadır. Bununla birlikte, ana rehberde açıklanan tahmin teknikleri ve birçok organik madde sınıfı için geçerli olan vekil bilgilerin kullanımı (örneğin, oktanol-su dağılım katsayısı K_{ow}), nanotaneciklerin biyobirikim potansiyelinin tahmin edilmesi için geçerli olmayabilir. Nanomalzemeler söz konusu olduğunda, nanomalzemelerin dağılmış bir şekilde olmaları ve çözelti içinde olmamaları sebebiyle çözünürlük tahminlerinin yapılması ve log K_{ow} değerlerinin hesaplanması normalde mümkün değildir. Ancak, n-oktanol/su dağılım katsayısının ölçümü, suda çözünür olan ve yüksek bir çözünme oranına sahip organik nanomalzemeler için hala geçerli olabilir.

1.1.1.1 Test dışı veriler

Ana rehberin R.7.10.3.2 Bölümü test dışı verilerle (örneğin, nicel yapı - aktivite ilişkileri (QSAR), log K_{ow} 'a bağlı biyokonsantrasyon faktörü (BCF) modelleri ve sucul biyobirikimin değerlendirilmesine ilişkin gruplama yaklaşımları) ilgilidir. Nanomalzemeler için *in silico* modellerinin kullanımı henüz belirlenmemiş veya kabul edilmemiştir. Bu nedenle, kullanılmaları halinde kapsamlı bir şekilde rapor edilmeleri ve gerekçelendirilmeleri gerekmektedir. Nanotanecikler ile ilgili olarak, yukarıda ve *ÇSB Rehberi R.7.a, Ek R7-1*, Bölüm 2.2.1, 2.2.2 ve 2.2.4'de [2] açıklandığı üzere log K_{ow} değerine veya çözünürlüğe bağlı olarak biyobirikim tahminlerinin yapılması genel olarak mümkün değildir. Bununla birlikte, *ÇSB BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R.7.a, Ek R7-1'de listelenen test dışı yöntemler ve parametreler, kanıt ağırlığı yaklaşımının bir parçası olarak değerlendirildiğinde bu sonlanma noktası için yararlı olabilir.

Ana Rehber'in R.7.10.3.4 Bölümü, biyobirikim potansiyeline ilişkin diğer göstergeleri açıklamaktadır. Bu, potansiyel biyobirikimin n-oktanol/su dağılım katsayısı (K_{ow}) değerinden tahmin edilebildiği bir tarama yaklaşımını içerir. Ayrıca, KKDİK Yönetmeliği, Ek 9, 9.3.2, sütun 2, örneğin log $K_{ow} \leq 3$ için bir değer, sucul türlerde biyobirikim testinin ihmal edilmesinin gerekçelendirilebilmesi amacıyla bir feragat unsuru olarak kullanılabileceğini belirtir. *ÇSB BG ve KGD Rehberi*, Bölüm R7.a, Ek R7-1, Kısım 2.2.1, Kısım 2.2.2 ve Kısım 2.2.4'ünde açıklandığı üzere, denge dağılımına bağlı tahmin tekniklerinin çözünmemiş nanotanecikler için kesin olarak geçerli olmaması sebebiyle, bu yaklaşım nanotanecikler için uygun değildir. OECD 40'ta [3] ana hatlarıyla belirtildiği üzere, K_{ow} değeri nanomalzemeler için biyobirikimin tahmin edilebilmesi amacıyla genel olarak uygun değildir.

Yukarıdaki bilgiler dikkate alınarak, log K_{ow} , log K_{oc} veya diğer tarama yöntemlerine bağlı olarak sucul türlerdeki biyobirikime ilişkin bilgi gerekliliğinden feragat edilebilmesi çoğu durumda nanomalzemeler için uygun değildir.

1.1.1.2 Sucul biyobirikim için *in vivo* testler

Ana Rehber, Bölüm R.7.10.3.1; Ek 9, 9.3.2'de suda yaşayan türlerde biyobirikim için belirlenmiş bilgi gerekliliklerini karşılayan uygun bir *in vivo* test yöntemi olarak OECD Test Rehberi 305 "Balıklarda Biyobirikim: Su ve Beslenme Yoluyla Maruz Kalma"yı [4] açıklar. Biyobirikim testi stratejilerine ilişkin daha fazla bilgi, PBT değerlendirmesi ile ilgili *BG ve KGD Rehberi'nin* R.11 Bölümü'nde bulunabilir.

OECD Test Rehberi 305, nanomalzemeler için kısmen uygulanabilir. Bu, beslenme yoluyla maruz kalmanın izlendiği durumlarda uygulanabilir; bir *biyokonsantrasyon faktörüne (BCF)* neden olan sucul maruz kalma yolu, nanotanecikler olarak kalmaları halinde çoğu nanomalzeme için geçerli değildir. Suda çözünür ve/veya yüksek çözünürlük oranına sahip olan organik nanomalzemeler için sucul yol aracılığıyla bir BCF çalışması uygulanabilir. Bununla birlikte, bu tür nanomalzemelerin belirli formlarının biyobirikimleri için ek değerlendirmelere ve testlere ihtiyaç olabilir. BCF, bir organizmadaki bir maddenin konsantrasyonunun, kararlı hale ulaşıldığında sudaki konsantrasyona oranıdır. Nanotanecikler için, organizma ile su fazı [5] arasında termodinamik dengeye ulaşamayacağı ve kararlı bir sulu konsantrasyonun korunamayacağı sebebiyle bir BCF hesaplanamaz. Bununla birlikte, kinetik veri olarak alım ve temizleme hızı, bunun yerine nanomalzemeler ve tanecikler için değerlendirilebilir. Bu nedenle, bu kinetik parametrelerin kullanılması ve tahmin edilmesi koşuluyla, sürekli akış yöntemi nanomalzemenin biyobirikim potansiyelinin tahmin edilebilmesi amacıyla uygulanabilir ([3], [6], [7] ve [8]).

Nanomalzemelere ilişkin görünür birikim potansiyelinin değerlendirilmesi için yeni bir OECD Rehberi geliştirilme aşamasındadır. Bu rehber, mevcut olduğu durumlarda, nanomalzemelerin beslenme yoluyla maruz kalma aracılığıyla nasıl test edileceğine ve balıktaki birikim potansiyelinin nasıl ölçüleceğine ve miktarının tayin edileceğine ilişkin bilgi sağlayacaktır. Bu arada, beslenme yoluyla maruz kalmaya ilişkin mevcut taslak Rehber Doküman, bu maruz kalma yöntemi hakkında bilgi verebilir³.

Çökelti ve toprakta biyobirikim için gerçekleştirilen testler gibi sucul ortamda gerçekleştirilen testler ile biyobirikime ilişkin diğer *in vivo* testler de kullanılabilir. OECD Test Rehberi 315 Çökeltide yaşayan Bentik Solucangillerde (Oligochaetes) Biyobirikim [9] ve OECD Test Rehberi 317 Karasal Solucangillerde (Oligochaetes) Biyobirikim [10] temelde nanomalzemeler için geçerlidir, ancak biyobirikim testlerinin gerçekleştirilebilmesi ve sonuçların yorumlanabilmesi için uzman değerlendirmesi gerekecektir ([8], [11]).

Bu Test Rehberlerinin (OECD Test Rehberi 315 ve OECD Test Rehberi 317) uygulanmasının sonuçları, balıklar üzerinde nanomalzemelerin biyobirikiminin test edilmesindeki mevcut zorluklar göz önünde bulundurularak, biyobirikimin değerlendirilmesinde kanıt ağırlığı olarak kullanılabilir. Toprak ve çökelti ortamları, nanomalzemeler için potansiyel alıcılar olarak kabul edilir ve bu nedenle, nanomalzemenin ortamdaki davranışı göz önünde bulundurulduğunda da önemlidir.

Bunların güvenilir olarak kabul edilebilmesi için, suda veya çökeltide ve toprakta yaşayan organizmalarda biyobirikim testlerinin gerçekleştirildiği durumlarda, Bölüm R7a, Ek R7-1, Kısım 2.1.1. (Numune hazırlama) ile R7b, Ek R7-1 - Bölüm 2.1'de (Nanomalzemeler üzerinde ekotoksisite ve davranış testinin nasıl gerçekleştirileceğine dair genel tavsiye) numune hazırlamaya ve ekotoksisite ve davranış testine ilişkin tavsiyeler takip edilmelidir. İlave olarak, dağılım ve aglomerasyon/agregasyon özelliklerindeki konsantrasyona özgü değişikliklerin göz önünde bulundurulabilmesi için test konsantrasyonlarının bir kütle ölçüsü ve ilgili olduğunda yüzey alanı, tanecik sayısı gibi nanoya özgü ölçütler kullanılarak tüm test süresi boyunca izlenmesi gerekir ([8], [11]).

1.1.2 Karasal organizmalar üzerindeki etkiler

1.1.2.1 Test dışı veriler

Ana rehberde (Bölüm R7c), Kısım R.7.11.3.1, test dışı yaklaşımların kullanılma olasılığı (örneğin, topraktaki ve karasal ortamdaki toksisitenin tahmin edilebilmesine ilişkin QSAR, gruplama ve denge dağılımı yöntemi (EPM)) açıklanmaktadır.

Nanomalzemeler ile ilgili olarak, "dağılıma" bağlı tahminler, bir maddenin moleküler formdaki dağılımı (ana rehberde açıklanan iyonik formlar hariç) ile sınırlıdır. Dağılım yöntemi, nanotanecikler söz konusu olduğunda toprak ve çökelti ortamlarındaki maruz kalmayı olduğundan daha az tahmin edebilir ve sudaki maruz kalmayı olduğundan fazla tahmin edebilir. Tanecik boyutunun küçük olduğu durumlarda hava yoluyla da dağılım meydana gelebilir. Tanecik dağılımı için herhangi bir tahmin yöntemi mevcut değildir, bu nedenle duruma göre ele alınmalıdır.

³ Erişim adresi: <http://www.oecd.org/env/ehs/testing/draft-guidance-review-documents-monographs.htm>

1.1.2.2 Test verileri

Karada yaşayan organizmalar üzerindeki etkilerin test edilmesiyle ilgili olarak, ana rehber Bölüm R.7.11'de açıklanan yöntemler, prensip olarak nanomalzemelerin test edilmesi için de geçerlidir.

Örneğin numune hazırlamaya ve eklemeye ilişkin uygulama yönteminin, nanomalzemenin mevcudiyetinin ve topraktaki ekotoksosite seviyesinin üzerinde bir etkisi olduğu gösterilmiştir [6]. Bu nedenle, uygulanan numune hazırlama ve ekleme yönteminin iyi bir şekilde gerekçelendirilmesi ve ayrıntılı olarak rapor edilmesi ve imal edilen nanomalzemelerin test edilmesine yönelik OECD Rehberleri olan OECD Sponsorluk Programı; ilk revizyon [12] (OECD, 2009), Nanomalzemeler için Numune Hazırlamaya ve Dozimetriye İlişkin Rehber Notları [13] ve OECD 40 [3] içerisinde belirtilen tavsiyelerin takip edilmesi esastır.

Test gerçekleştirilirken, test malzemesinin toprağa homojen bir şekilde dağılması gerekir. OECD 40 [3] farklı ekleme yöntemlerini açıklamaktadır; tanecikler, sucul dağılımla toprağa (yaş ekleme) veya test ortamına doğrudan (kuru ekleme) dağıtılabılır veya bir taşıyıcıya (örneğin, silika kumu veya ekleme yapılmış gıda) dahil edilebilir. Optimum ekleme yöntemi hem test malzemesine hem de test yöntemine bağlıdır. Nanomalzemenin fizikokimyasal özelliklerine, hedef konsantrasyona, ortama ve seçilen biyoanaliz yöntemine ve testten önce toplanan ön verilere bağlı olacaktır. Örneğin, ZnO nanotanecikleri, homojen dağılımın elde edilebilmesi için toprak özütlelerinde hazırlanan sulu dağılımlar olarak toprağa verilebilir [14] ve toprağın katı bir taşıyıcı olarak kullanıldığı Ag nanotanecikleri ile tatmin edici bir ekleme homojenliği elde edilebilir [6].

Yalnızca kütle ölçüsünün kullanımının gerekçelendirilmemesi halinde, tanecik sayısı ve yüzey alanı gibi nanoya özgü ölçütler prensipte uygun olduğu durumlarda kullanılmalıdır. Birden fazla ölçütün kullanılması, ölçülen cevabın farklı doz ölçütleri ile geriye dönük olarak ilişkilendirilmesine izin verir (bkz. Bölüm R7.b Eki'nde Kısım 2.1.1). Örneğin test sırasında yalnızca kütle ölçütünün kaydedildiği durumlarda ölçütler arasındaki dönüşüm, test sonuçlarının yorumlanmasındaki belirsizliği artırır ve bu nedenle, (ÇŞB Rehberi R.7.a, Ek R7-1, Bölüm 2.1.1'de vurgulandığı üzere) test sırasında birden fazla ölçütün ölçülmesi önerilir.

Bu tavsiyelere ilave olarak, dağılımdaki konsantrasyona özgü değişikliklerin ve aglomerasyon/agregasyon özelliklerinin göz önünde bulundurulabilmesi için nanomalzemenin konsantrasyonuna ilişkin ölçümlerin (örneğin tanecik sayısı, yüzey alanı veya kütle konsantrasyonu gibi farklı ölçütler kullanılarak) tüm test konsantrasyonlarında test boyunca izlenmesi gerektiği dikkate alınmalıdır ([9], [11]).

Bölüm R.7c, Ek R7-2

2.1.3 Toksikokinetiğe ilişkin rehber

Toksikokinetik çalışması KKDİK kapsamındaki bir bilgi gerekliliği değildir. Bununla birlikte, diğer tüm maddelerde olduğu gibi, KKDİK Yönetmeliği tarafından tanımlanmış standart bilgi gereklilikleri, nanomalzemelerin olası toksikokinetiğine ilişkin bir yargıya varılması hususunda yardımcı olmak için yararlı bilgiler sağlayabilir (bkz. Bölüm R.7.12.2.1).

Nanomalzemelerin olası davranışına ilişkin bilgiler, fizikokimyasal verilere ve diğer verilere bağlı *in vitro* ve *in silico* tahminler ile sağlanabilir. Bu bilgi, maruz kalma ve zararlılık özelliklerinin çapraz okumasına yardımcı olmak için nanomalzemelerin gruplandırılmasında kullanılabilir ve böylece gerekli toplam test sayısını azaltılır.

Nanomalzemelerin özelliklerinin, nano boyutlu olmayan formlara kıyasla ADME (emilim, dağılım, metabolizma ve boşaltım) davranışını değiştirebileceği kabul edilmektedir. Nanomalzemelerin toksikokinetik profili çeşitli fizikokimyasal parametrelere, (örneğin bileşim, boyut, şekil, yüzey alanı, aglomerasyon/agregasyon durumu, yüzey özellikleri (yüzey yükü dahil), hidrofobiklik ve çözünme) bağlı olabilir. Bu nedenle nanomalzemeler, tanecikli malzemelere maruz kalmaktan biyolojik engeller ile korunan vücudun beklenmedik kısımlarına ulaşabilir. Biyolojik dokudaki nanotaneceklerin belirlenmesinin ve ölçülmesinin analitik ve teknik olarak hala zor olduğu belirtilmektedir. Bu nedenle, kullanılan yöntemlerin ve sınırlamalarının yeterince belgelendirilmesi tavsiye edilir.

İlgili biyolojik sıvılar ve test ortamında çözünürlük ile çözünme hızına ilişkin veriler, bir taneciğin davranışının ve ADME özelliklerinin anlaşılabilmesi ve bir maddenin "az çözünür" olarak kabul edilmesine ilişkin sınırların belirlenebilmesi için temel bir başlangıç noktasıdır (bkz. *Nanomalzemeler için uygulanabilir Bölüm R7.a, Ek R.7-1, Kısım 3.1.1*). Çözünme hızının belirlenmesi, belirli bir taneciğin biyolojik ortam ile nasıl etkileşime girebileceğine ilişkin bir fikir sağlar [15].

Az çözünür tanecikler söz konusu olduğunda, bu taneciklerin biyolojik engelleri aşım aşamaları durumunun belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. Translokasyon, *Bölüm R.7a için nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R.7-1* Bölüm 3.1 içerisinde listelenen özelliklerden daha fazla etkilenebilir.

Zararlılık değerlendirmesine ilave olarak, toksikokinetiğe ilişkin bilgiler, bir maddenin farklı formları arasında toksikolojik verilerin kullanımının gerekçelendirilebilmesi hususunda değerlidir (*Nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R.6-1 Nicel Yapı-Aktivite İlişkileri ve Gruplandırma Rehberi* [1]). Bu nedenle, hayvan kullanımının optimize edilebilmesi için KKDİK kapsamındaki gerekli deneylerden toksisiteye ilişkin mümkün olduğunca fazla verinin toplanması şiddetle tavsiye edilir. Örneğin, az çözünür nanomalzemeler için, doz aralığı bulma çalışmaları veya ana tekrarlı doz, üreme veya genotoksisite çalışmaları gerçekleştirildiğinde, aşağıdakiler gibi birkaç ilave analiz düşünülebilir:

- İdrardan ve dışkıdan numune alınması
- (Teknik olarak) uygulanabilir olduğunda ilgili dokulardaki nanomalzemelerin varlığının mikroskobik veya elektron mikroskobik nicel tespiti. Alternatif olarak, lazer desorpsiyon/iyonizasyon kütle spektrometresi LDI-MS kullanılarak çoklu görüntüleme ve Uçuş Zamanı İkincil İyon Kütle Spektrometresi (TOF-SIMS) gibi diğer yöntemler kullanılabilir ([16], [17]).
- Vücuttaki taneciklerin davranışının ve birikiminin izlenebilmesi için farklı organlardan birkaç zaman noktasında numune alınması (aralık bulma çalışmalarından elde edilen veriler, uygun numune alma zamanlarının belirlenebilmesi amacıyla kullanılabilir)
- Akciğer ve doku yükü

Numunelerin muhafaza edilmesi, daha sonraki analizlere izin verilmesi hususunda faydalı olabilir. (Örneğin, mikroskopi için dondurma veya doku fiksasyonu yoluyla saklama ([18]), yük analizi için dondurma ([19], [20])). Bilimsel olarak gerekçelendirilmedikçe, ilave analizler için fazladan hayvan kullanımına ilişkin tavsiyede bulunmak amaçlanmamaktadır. Bununla birlikte, ilave analizlerin yapılması ile toksisite göstergesi arasında bir dengenin bulunması önemlidir.

REFERANSLAR

- [1] ECHA, "Nicel Yapı Aktivite İlişkileri ve Gruplandırma Rehberine uygulanabilir nanomalzemeler için Ek R.6-1," [Çevrimiçi]. Mevcut: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- [2] ECHA, "Bölüm R7a Sonlanma noktası özel rehberi için geçerli nanomalzemeler için uygulanabilir Ek R7-1," [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://echa.europa.eu/guidance-documents/guidance-on-information-requirements-and-chemical-safety-assessment>.
- [3] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine Seri - No. 40. İmal Edilen Nanomalzemelerin Ekotoksikolojisi ve Çevresel Davranışı: Test Rehberi. Uzman Toplantı Raporu ENV/JM/MONO(2014)1," 2014. [Çevrimiçi]. Erişim adresi: <http://www.oecd.org/science/nanosafety/publications-series-safety-manufactured-nanomaterials.htm>.
- [4] OECD, "Test No. 305: Balıklarda Biyobirikim: Su ve Beslenme Yoluyla Maruz Kalma, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberleri, Bölüm 3," 2012. [Çevrimiçi]. Mevcut: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-3-degradation-and-accumulation_2074577x.
- [5] G. Cornelis, "Fate descriptors for engineered nanoparticles: the good, the bad, and the ugly (Tasarlanmış nanotaneçikler için davranış tanımlayıcıları: iyi, kötü ve çirkin)," *Environmental Science: Nano*, cilt 2, ss. 19-26, 2015.
- [6] K. Hund-Rinke, K. Schlich ve T. Klawonn, "Influence of application techniques on the ecotoxicological effects of nanomaterials in soil (Uygulama tekniklerinin topraktaki nanomalzemelerin ekotoksikolojik etkileri üzerindeki etkisi)," *Environmental Sciences Europe*, cilt 24, sayı 1, sayfa 1-12, 2012.
- [7] L.M. Skjolding, *Bioaccumulation and trophic transfer of engineered nanoparticles in aquatic organisms (Suda yaşayan organizmalarda tasarlanmış nanotaneçiklerin biyobirikimi ve trofik transferi)-Doktora tezi DTU, Danimarka*, 2015.
- [8] K. Rasmussen, M. Gonzalez, P. Kearns, J. Riego Sintes, F. Rossi ve P. Sayre, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Test ve Değerlendirme Programı üzerine OECD Çalışma Grubunun başarılarının gözden geçirilmesi. Keşif testlerinden test rehberlerine, "Regulatory Toxicology and Pharmacology (Düzenleyici Toksikoloji ve Farmakoloji), cilt 74, s. 147-160, 2016.
- [9] OECD, "Test No. 315: Çökeltide Yaşayan Bentik Solucangillerde (Oligochaetes) Biyobirikim, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberleri, Bölüm 3," 2008. [Çevrimiçi]. Mevcut: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-3-degradation-and-accumulation_2074577x.
- [10] OECD, "Test No. 317: Karasal Solucangillerde (Oligochaetes) Biyobirikim, Kimyasalların Test Edilmesine Yönelik OECD Rehberleri, Bölüm 3," 2010. [Çevrimiçi]. Mevcut: http://www.oecd-ilibrary.org/environment/oecd-guidelines-for-the-testing-of-chemicals-section-3-degradation-and-accumulation_2074577x.
- [11] K. Hund-Rinke, M. Herrchen ve K. Schlich, "Nanomalzemelerin çevresel değerlendirmesine ilişkin bütünleşik test stratejisi. UBA-FB 00," 2014. [Çevrimiçi]. Mevcut: http://www.bmub.bund.de/fileadmin/Daten_BMU/Pool/Forschungsdatenbank/fkz_37_12_65_409_nanomaterialien_teststrategie_bf.pdf.
- [12] OECD, "İmal edilen nanomalzemelerin test edilmesi için rehber el kitabı: OECD'nin sponsorluk programı. İlk revizyon: İmal edilen nanomalzemelerin güvenliği ile ilgili seriler, ENV/JM/MONO(2009)20/REV," 2009. [Çevrimiçi]. Mevcut: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2009\)20/rev&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2009)20/rev&doclanguage=en).
- [13] OECD, "İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenlik Testi için Numune Hazırlama ve Dozimetri Rehberi. İmal Edilen Nanomalzemelerin Güvenliği Üzerine Seriler No.36. ENV/JM/MONO(2012)40," 2012. [Çevrimiçi]. Mevcut: <http://www.oecd.org/science/nanosafety/publications-series-safety-manufactured-nanomaterials.htm>.

- [14] P. Kool, M. Ortiz ve C. van Gestel, "Chronic toxicity of ZnO nanoparticles, non-nano ZnO and ZnCl₂ to *Folsomia candida* (Collembola) in relation to bioavailability in soil (ZnO nanotaneceklerinin, nano olmayan ZnO ve ZnCl₂'nin topraktaki biyoyararlanım ile ilgili olarak *Folsomia candida*'ya (Collembola) kronik toksisitesi)," *Environ Pollut.*, cilt 159, sayı 10, sayfa 2713-2719, 2011.
- [15] W. Utembe, K. Potgieter, A. Stefaniak ve M. Gulumian, "Dissolution and biodurability: Important parameters needed for risk assessment of nanomaterials (Çözünme ve biyolojik olarak dayanıklılık: Nanomalzemelerin risk değerlendirmesi için gerekli önemli parametreler)," *Particle and fibre toxicology*, cilt 12, sayı 11, 2015.
- [16] B. Yan, S. Kim, C. Kim, K. Saha, D. Moyano, Y. Xing, Y. Jiang, A. Roberts, F. Alfonso, V. Rotello ve R. Vachet, "Multiplexed Imaging of Nanoparticles in Tissues Using Laser Desorption/Ionization Mass Spectrometry (Lazerle Yüzeyden Sıyırılma/İyonizasyon Kütle Spektrometresi Kullanılarak Dokulardaki Nanotaneceklerin Çoklu Görüntülenmesi)," *Journal of the American Chemical Society*, cilt. 135, sayı 34, s. 12564-12567, 2013.
- [17] I. Gunsolus ve C. Haynes, "Analytical Aspects of Nanotoxicology (*Nanotoksikolojinin Analitik Yönleri*)," *Analitik Kimya*, cilt. 88, sayı 1, s. 451-479, 2016.
- [18] C. Mühlfeld, B. Rothen-Rutishauser, D. Vanhecke, F. Blank, P. Gehr ve M. Ochs, "Visualization and quantitative analysis of nanoparticles in the respiratory tract by transmission electron microscopy (Geçirimli elektron mikroskopisi ile solunum yolundaki nanotaneceklerin görüntülenmesi ve nicel analizi)," *Particle and Fiber Toxicology*, cilt 4, sayı 1, 2007.
- [19] K. E. Levine, R. A. Fernando, M. Lang, A. Essader ve B. A. Wong, "Development and validation of a high-throughput method for the determination of titanium dioxide in rodent lung and lung-associated lymph node tissues (Kemirgen akciğerinde ve akciğerle ilişkili lenf düğümü dokularında titanyum dioksitin belirlenmesi için yüksek verimli bir yöntemin geliştirilmesi ve doğrulanması)," *Analytical Letters*, cilt 36, sayı 3, ss. 563-576, 2003.
- [20] E. Bermudez, J. Mangnum, B. Wong, B. Asgharian, P. Hext, D. Warheit ve J. Everitt, "Pulmonary Responses of Mice, Rats, and Hamsters to Subchronic Inhalation of Ultrafine Titanium Dioxide Particles (Farelerin, Sıçanların ve Hamsterlerin Ultra İnce Titanyum Dioksit Taneciklerinin Subkronik Solunumuna Karşı Pulmoner Cevapları)," *Toxicological Sciences*, cilt 77, sayı 2, ss. 347-357, 2004.
- [21] ECHA, "Nanoformları kapsayan kayıt dosyaları nasıl hazırlanır: en iyi uygulamalar" [Çevrimiçi]. Mevcut: http://echa.europa.eu/documents/10162/13655/how_to_register_nano_en.pdf/f8c046e_c-f60b-4349-492b-e915fd9e3ca0.