

OCENJEVANJE TVEGANJA ZA OKOLJE ZA HUMANA ZDRAVILA

ENVIRONMENTAL RISK ASSESSMENT OF MEDICINAL PRODUCTS FOR HUMAN USE

AVTOR / AUTHOR:

mag. Mark Stanojević, univ. dipl. kem.^{1,2}
prof. dr. Marija Sollner Dolenc, mag. farm.²

¹ BiSafe d. o. o., V kladeh 11c, 1000 Ljubljana

² Univerza v Ljubljani, Fakulteta za farmacijo,
Aškerčeva 7, 1000 Ljubljana

NASLOV ZA DOPISOVANJE / CORRESPONDENCE:
E-mail: marija.sollner@ffa.uni-lj.si

1 UVOD

Prisotnost biološko aktivnih farmacevtskih učinkovin v okolju je vse bolj zaskrbljujoča. Proizvodnja in poraba zdravilnih učinkovin za humano rabo se iz leta v leto povečuje (1), s tem pa se povečuje tudi izločanje le-teh v okolje. Zaradi narave uporabe se zdravilne učinkovine in njihovi presnovki

POVZETEK

Evropska agencija za zdravila (EMA) je novembra 2018 izdala osnutek prenovljenih smernic za oceno tveganja za okolje za humana zdravila. Prenovljene smernice nadgrajujejo prvotne smernice iz leta 2006 in zagotavljajo bolj dosleden in celovit pristop k oceni tveganja za okolje. Zaradi večje preglednosti uvajajo pristop odločitvenega drevesa, ki nazorno prikazuje lastnosti učinkovin, za katere se zahteva testiranje in ocenjevanje. Hkrati pa bolj jasno definirajo način ocenjevanja tveganja za vsak del okolja posebej. S posodobitvijo dvostopenjskega pristopa k ocenjevanju zmanjšujejo tudi administrativno breme, saj ponujajo podrobnejše tehnične napotke za izpopolnitev ocene izpostavljenosti ter omogočajo vpeljavo ukrepov za zmanjšanje tveganja v drugi fazi. Prav tako osnutek smernice navaja prilagojen pristop k oceni tveganja za potencialne kemične motilce endokrinega sistema in antibiotike. Prenovljene smernice tako predstavljajo izboljšana navodila za oceno tveganja za okolje in uvajajo bolj natančno proučitev vpliva zdravilnih učinkovin na razvoj in reprodukcijo ter endokrini sistem.

KLJUČNE BESEDE:

Bioakumulativnost, obstojnost, ocena tveganja za okolje (ERA), predvidena koncentracija v okolju (PEC), strupenost

ABSTRACT

In November 2018, the European Medicines Agency (EMA) issued a draft of revised guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use. The revised guideline upgrades the first guidelines published in 2006 and provide a more consistent and comprehensive approach to environmental risk assessment. Thus, in terms of greater transparency, a decision tree approach was introduced that clearly illustrates substances properties that trigger the need for its testing and evaluation. At the same time, the guideline defines the risk assessment approach for each environmental compartment more clearly. The revision of a two-tiered assessment approach also reduces administrative burden, since the revised guideline provides more detailed technical guidance to applicants and allows the introduction of risk reduction measures



in the second phase. The draft guideline also defines the tailored risk assessment approach for potential endocrine active substances and antibiotics. The updated guideline thus provides an improved guidance for environmental risk assessment and introduces more precisely evaluation of the influence of the active substances on development and reproduction as well as on the endocrine system.

KEY WORDS:

Bioaccumulation, environmental risk assessment (ERA), persistence, predicted environmental concentration (PEC), toxicity

neprestano izločajo v okolje, tako so jim lahko organizmi, predvsem vodni, nenehno izpostavljeni. Primer učinkov zdravilnih učinkovin na okolje je feminizacija rib, žab in krokodilov kot posledica kronične izpostavljenosti zdravilnim učinkovinam v kontracepcijskih tabletah, 17-estradiolu in 17-etinilestradiolu. Poudariti moramo, da se sicer te snovi učinkovito odstranjujejo na čistilnih napravah in da se zato sproščajo v okolje le v zelo nizkih koncentracijah (v ng/L), ki pa so kljub temu dovolj visoke, da prihaja do feminizacije moških vretenčarjev (2). Nasprotno se ostanki zdravil proti raku slabo odstranjujejo na čistilnih napravah ter se zato kljub manjši porabi v vodnem okolju prav tako pojavljajo v koncentracijah v ng/L. Le-te so prenizke, da bi lahko neposredno ogrožale vodne organizme, vendar lahko povzročijo dolgotrajne zapoznele učinke, saj neposredno ali posredno delujejo na DNA. Dokazali so, da ostanki kemofarmacevtikov vplivajo na razvoj in razmnoževanje zelenih alg, rakov in rib (3). Velik problem v okolju predstavlja tudi rezistenca na antibiotike. Vode iz čistilnih naprav so predvidoma glavni vir onesnaženja vodnega okolja z antibiotiki in bakterijami, odpornimi na antibiotike. Proces v čistilnih napravah namreč ustvarjajo okolje, primerno za razvoj rezistenčnih bakterij, saj so bakterije v čistilnih napravah nenehno izpostavljene antibiotikom v subinhibitornih koncentracijah (4).

Da bi bolje ovrednotili potencialne negativne učinke zdravil na okolje in sprejeli ukrepe za zmanjšanje le-teh, je Evropska agencija za zdravila (EMA) novembra 2018 izdala osnutek prenovljenih smernic za oceno tveganja za okolje za humana zdravila (5). Za vsako humano zdravilo, ne glede na vrsto zdravila, za katero predložijo vlogo za dovoljenje za promet, je tako potrebno izdelati oceno tveganja za okolje (ERA, *environment risk assesment*) in oceno obstojnosti, bioakumulativnosti ter strupenosti (PBT, *persistent,*

bioaccumulative, toxic). Dodana je tudi zahteva za oceno sekundarne toksičnosti. Še posebej pomembno je, da takšno oceno naredimo za snovi, ki se kopičijo skozi prehranjevalno verigo in imajo tako večje toksične učinke na organizme višje v prehranski verigi. Najbolj opazna sprememba pa je vpeljava termina »enodkrino aktivna snov« ter zahteva za proučitev vpliva zdravilnih učinkovin na razvoj in reprodukcijo.

Kljub temu, da nove smernice zahtevajo izdelavo večjega števila študij, pa se skozi načelo zamenjave, zmanjšanja in izboljšanja skladno z Direktivo 2010/63 o zaščiti živali, ki se uporabljajo v znanstvene namene (6), ohranja skrb za dobrobit živali. Zato so vlagatelji pozvani, da si med seboj izmenjujejo obstoječe študije na živalih ter tako zmanjšajo število novih študij in nepotrebno trpljenje živali.

2 OSNOVNI PRINCIPI ODLOČANJA

Prenovljene smernice uvajajo odločitveno drevo (slika 1), ki pojasnjuje, kdaj so potrebne študije ERA, in zagotavljajo podrobnejše tehnične smernice. Odločanje je razdeljeno v dve fazi:

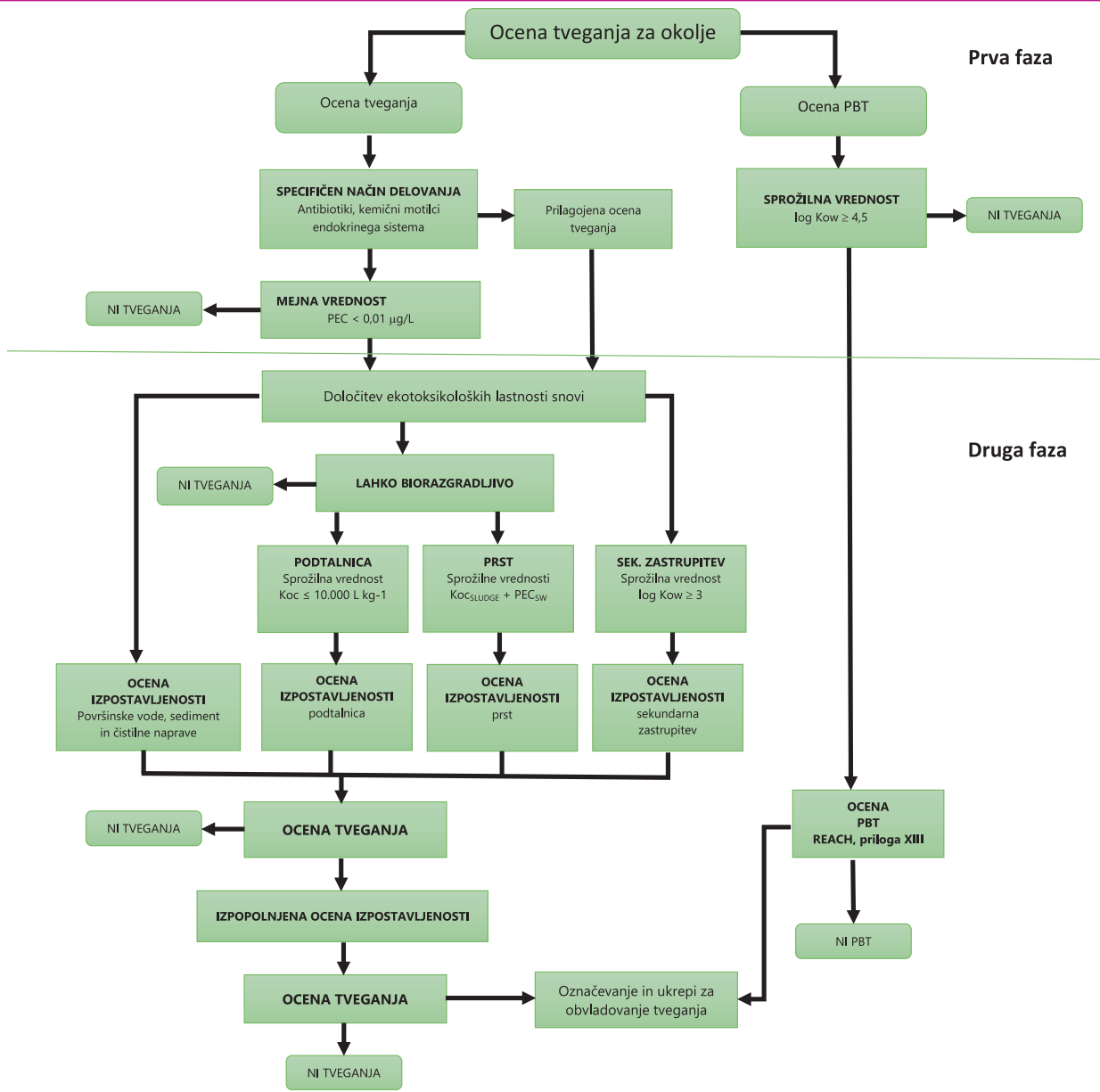
1. faza: ocena izpostavljenosti okolja in osnovne značilnosti zdravila ter preliminarna ocena PBT;
2. faza: izvedba potrebnih študij za oceno obnašanja in učinkov v okolju.

Prva faza je obvezna in služi identifikaciji zdravil, za katere je potrebna ocena druge faze. Namen študij prve faze je izračunati predvideno koncentracijo v okolju (PEC, *predicted environmental concentration*). Revidirane smernice ohranjajo mejno vrednost PEC_{sw} (*predicted environmental concentration in surface water*) pod 0,01 mg/L, pri kateri ocena druge faze ni potrebna. Kljub temu pa je za nekatere snovi, ki imajo lahko negativne učinke tudi pri okoljskih koncentracijah pod 0,01 mg/L (npr. kemični motilci endokrinega sistema, antibiotiki oz. protimikrobne učinkovine), potrebno izdelati oceno druge faze ne glede na vrednosti PEC.

V drugi fazi je potrebno ovrednotiti študije o fizikalno-kemijskih lastnostih, obnašanju in učinkih aktivne snovi na okolje. Cilj te faze je določitev tiste koncentracije snovi, pod katero ni več mogoče pričakovati neželenih učinkov na okolje (PNEC, *predicted no effect concentration*), ter primerjava le te z izračunano predvideno koncentracijo v okolju (PEC).

Vzporedno je potrebno izdelati tudi končno oceno obstojnosti, bioakumulativnosti ter strupenosti (PBT) učinkovin. Pri tem je potrebno proučiti, ali ima aktivna snov določene intrinzične lastnosti, ki bi lahko pri dolgotrajni uporabi privedle do nepredvidenih učinkov na okolje. Posledic kronične izpostavljenosti obstojnim in bioakumulativnim snovem namreč ni mogoče predvideti, zato moramo izpostavljenost okolja takim snovem čim bolj omejiti. Zato je tudi ocena

nevarnih lastnosti PBT ločena od ocene tveganja in jo je potrebno izvesti za vse aktivne snovi ne glede na PEC. Pri tem uporabljamo stopenjsko strategijo, pri kateri v prvi stopnji iz nadaljnega ocenjevanja izločimo snovi, katerih porazdelitveni koeficient med organsko in vodno fazo (log Kow) je manjši od 4,5. Snovi, katerih log Kow je večji od 4,5, ocenimo v drugi stopnji skladno z merili za oceno PBT, določenimi v prilogi XIII uredbe REACH (7).



Slika 1: Odločitveno drevo za oceno tveganja za okolje (povzeto po 5).
 Figure 1: Decision tree for environmental risk assessment (summarized after 5).



3 ZBIRANJE IN OCENJEVANJE PODATKOV

Oceno tveganja za okolje je potrebno izvesti samo za relevantne sestavine v zdravilu. V večini primerov je to zdravilna učinkovina. Za pomožne snovi se ERA običajno ne zahteva, razen če obstaja poseben toksikološki učinek, ki nakazuje na tveganje za okolje pri običajni uporabi zdravila.

Pri oceni tveganja uporabljamo pristop celokupnih ostankov, ki predvideva, da se vsa zdravilna učinkovina izloči kot nemetabolizirana izhodna učinkovina, pri čemer predvidevamo, da ima presnovek enake ali manjše toksične učinke. Da bi preprečili neželeno podvajanje študij na živalih,

mora vlagatelj preveriti, ali so na voljo javno dostopne informacije, potrebne za oceno tveganja. Še več, predložiti mora popoln literaturni pregled o vseh podatkih o učinkovini, skladno z opisanimi navodili za iskanje, uporabo in oceno pridobljenih informacij. Vendar za razliko od drugih regulatornih področij (npr. REACH (7), Uredba o biocidnih proizvodih (8)) vlagatelji niso zavezani izmenjavi podatkov študij na živalih, so pa k temu pozvani. Zavezanci po navadi nimajo dostopa do celotnih študij, ki so jih izdelali drugi proizvajalci za namene drugih, prej omenjenih regulatornih področij. Javno dostopni so le povzetki študij, ki pa jih ni moč predložiti kot ustrezen dokaz. EMA namreč zahteva predložitev celotne študije, kar jim omogoča oceno ustreznosti le-te. Tako je žal v večini primerov potrebno ponovno izvesti vse zahtevane ekotoksikološke študije.

Preglednica 1: Študije, ki jih je potrebno opraviti za oceno tveganja druge faze (povzeto po (5)).

Table 1: Studies to be performed to assess the risk of the second phase (summarized after (5)).

Študija	Smernica
Fizikalno-kemijske lastnosti	
Topnost v vodi	OECD 105
Porazdelitveni koeficient (oktanol/voda)	OECD 107 ali 123
Konstanta disociacije	OECD 112
UV-Vis absorpcijski spekter	OECD 101
Tališče	OECD 102
Parni tlak	OECD 104
Obnašanje v okolju	
Adsorpcija/desorpcija z metodo šaržnega ravnotežja s 3 prstmi in 2 muljema iz čistilnih naprav	OECD 106
Preizkus biorazgradljivosti	OECD 301
Degradacija v prsti	OECD 307
Toksičnost za vodne organizme	
Alge, inhibicija rasti	OECD 201
<i>Daphnia sp.</i> , nižji raki, reprodukcija	OECD 211
Ribe, toksičnosti za zgodnje razvojne stopnje	OECD 210
Toksičnost za tla	
Transformacija dušika (28 dni)	OECD 216
Kopenske rastline	OECD 208
Kolobarniki / <i>Enchytraeid</i>	OECD 222/OECD
Skakači	OECD 232
Delovanje čistilnih naprav	
Preskus inhibicije respiracije aktivnega blata	OECD 209
Toksičnost za sediment (ena od spodnjih treh)	
<i>Lumbriculus sp.</i> , kolobarniki, sediment	OECD 225
<i>Chironomus</i> , žuželke, sediment-voda, toksičnost	OECD 218/219
<i>Chironomus</i> , žuželke, sediment-voda, življenjski cikel, toksičnost	OECD 233

4 DOLOČANJE EKOTOKSIKOLOŠKIH LASTNOSTI SNOVI

Za potrebe določevanja ekotoksikoloških lastnosti snovi in izvedbo ocene tveganja je potrebno izvesti eksperimentalne študije skladno z dobro laboratorijsko prakso (GLP) in naj-novejšimi smernicami, ki jih je izdala Organizacija za sodelovanje in razvoj (OECD), ali primerljivimi mednarodno priznanimi smernicami (preglednica 1).

Osnovne lastnosti snovi, pridobljene iz fizikalno-kemijskih študij, podajo informacije o obnašanju snovi v okolju ter s tem omogočijo prvo presejanje snovi. Tako je za snovi, ki imajo porazdelitveni koeficient oktanol/voda < 4,5, verjetnost za bioakumulacijo majhna in zato ocena PBT za te snovi ni potrebna. Nekoliko nižjo mejno vrednost (log Kow ≥ 3) uporabljamo tudi za oceno sekundarnih zastrupitev. Podatki o topnosti v vodi in konstanti disociacije pa omogočajo preverbo najvišjih možnih koncentracij izpostavljenosti.

Poleg fizikalno-kemijskih študij je potrebno izdelati tudi študije obnašanja snovi v okolju, ki omogočajo napoved njenega prehajanja ter njeno porazdelitev v prsti in vodi. Ker je ta proces kompleksen in odvisen od številnih dejavnikov, je potrebno v študiji uporabiti različne tipe usedlin in prsti. Cilj študij absorpcije je določiti distribucijski koeficient (Kd), ki je definiran kot koeficient vsebnosti snovi v prsti/usedlini in vodni raztopini po vzpostavitvi ravnovesja. Da bi upoštevali razlike v vsebnosti organskega ogljika v različnih medijih, uporabljamo na organski ogljik normaliziran absorpcijski koeficient (Koc), ki je pokazatelj sposobnosti vezave proučevane snovi na organsko snov prsti in usedlin.

Rezultati študije biorazgradljivosti (OECD 301) napovedujejo obstojnost snovi v naravi. Snovi, ki niso lahko biorazgradljive, štejemo za obstojne in je za njih potrebno izdelati oceno PBT. Po drugi strani pa za snovi, ki so lahko biorazgradljive, ni potrebno izdelati ocene tveganja za prst in površinske vode.

Za določanje toksičnosti snovi za vodne organizme (preglednica 1) uporabljamo podatke kroničnih ekotoksikoloških študij, saj se ostanki zdravilnih učinkovin zaradi narave uporabe sproščajo v okolje kontinuirano. Študije je potrebno izdelati za vrste treh trofičnih ravni (alge, raki, ribe). Za določitev PNEC uporabljamo bodisi koncentracijo brez opaznega učinka (NOEC) bodisi efektivno koncentracijo, ki izzove 10 % maksimalnega učinka (EC10) najboljčutljivejše testirane vrste, pri čemer ima EC10 prednost pred NOEC,

tudi če je njena vrednost višja. Podobno je za določanje toksičnosti snovi za organizme v prsti potrebno izvesti testiranja na treh trofičnih ravneh, ki vključujejo mikroorganizme, talne nevretenčarje in kopenske rastline.

5 MEJNE VREDNOSTI

Smernice opredeljujejo več faz ocenjevanja tveganja za okolje, po katerih snov napreduje, če izpolnjuje določene kriterije. Tako za snovi, katerih mejna vrednost predvidene koncentracije v okolju za površinsko vodo (PEC_{SW}) je pod 0,01 mg/L in ne sodijo med snovi, ki imajo lahko negativne učinke tudi pri nižjih koncentracijah v okolju (npr. kemični motilci endokrinega sistema, antibiotiki), ocena druge faze ni potrebna. Za take snovi lahko zaključimo, da ne predstavljajo tveganja za okolje.

PEC_{sw} izračunamo z uporabo enačbe 1 (5):

$$PEC_{SW} = \frac{DOSE_{AS} \times F_{PEN}}{WASTE_{INHAB} \times DILUTION} \quad \text{enačba 1}$$

Pri izračunu PEC_{sw} uporabimo naslednje parametre:

- PEC_{SW}, predvidena koncentracija v okolju za površinsko vodo [mg/L]
- DOSE_{AS}, Najvišji dnevni odmerek zdravilne učinkovine na prebivalca [mg/inh d]
- F_{PEN}, delež populacije, ki prejema učinkovino, privzeta vrednost: 0,01
- WASTE_{INHAB}, količina odpadne vode na prebivalca na dan [L/inh d], privzeta vrednost: 200
- DILUTION, redčitveni faktor, privzeta vrednost: 10

Za snovi, ki vstopajo v drugo fazo (PEC_{sw} > 0,01 mg/L), se vedno zahteva ocena tveganja za površinske vode in mulj čistilne naprave. Oceno tveganja za prst, podtalnico in sekundarno zastrupitev pa izvedemo, kadar določene intrinzične lastnosti učinkovin presegajo zastavljene kriterije.

5.1. KRITERIJI ZA OCENO TVEGANJA ZA PRST IN PODTALNICO

Prvi kriterij za izdelavo ocene tveganja za prst je biorazgradljivost. Za snovi, ki so lahko biorazgradljive, ocene tveganja namreč ni potrebno izvesti, saj je verjetnost akumu-



lacije v prsti majhna. Na drugi strani pa se snovi, ki imajo visoko afiniteto do organskega ogljika (visok Koc), akumulirajo v prsti. V trenutni smernici je ocena tveganja za prst zahtevana, če je Koc v mulju čistilne naprave (Koc_{SLUDGE}) > 10.000 L/kg. Vendar pa so lahko snovi z nižjo adsorpcijsko afiniteto prisotne v mulju čistilne naprave v visokih koncentracijah, tudi kadar je njihov izpust v okolje velik. To se je pokazalo kot prisotnost visokih koncentracij nekaterih učinkovin v vzorcih muljev, kljub temu da je bil Koc < 10.000 L/kg, npr. karbamazepina, ibuprofena in nekaterih antibiotikov (9, 10).

Zato prenovljene smernice kot kriterij vpeljujejo tudi PEC_{sw} , ki odraža količino izpuščene snovi v okolje. Tako je kriterij kombinacija Koc_{SLUDGE} in PEC_{sw} , kot je prikazano v preglednici 2.

Ocena tveganja za vodno okolje in sediment temelji na kronični izpostavljenosti in učinkih le-te, saj je emisija farmaceutskih ostankov v površinske vode stalna. Za določitev ekotoksičnosti za vodno okolje so tako potrebni podatki o kronični ekotoksičnosti, tj. NOEC ali EC10 za vrste iz treh trofičnih ravni (preglednica 1). Pri tem ima EC10 prednost pred NOEC za izpeljavo PNEC, tudi če je prva višja, kar smo že pojasnili v poglavju 2. Ocena tveganja za podtalnico se zahteva, kadar je $Koc_{SLUDGE} \leq 10.000$ L/kg, razen če je snov lahko biorazgradljiva.

5.2 TVEGANJA ZA SEKUNDARNO ZASTRUPITEV

S prenovitvijo smernic so uvedli oceno tveganja za sekundarno zastrupitev. Sekundarna zastrupitev je toksičen učinek na ptice in sesalce, ki nastane zaradi uživanja kontaminiranega plena (ribe ali drugi vodni organizmi). Pomembno je, da ovrednotimo spojine, ki se kopičijo skozi prehranjevalno verigo, predvsem lipofilne spojine. Smernice zato narekujejo, da je, v kolikor je učinkovina lipofilna (log

Kow is ≥ 3), potrebno oceniti tveganja za sekundarne zastrupitve.

Za oceno bioakumulacije uporabljamo biokoncentracijski faktor v ribah (BCF_{FISH}), ki ga določamo z eksperimentalno metodo OECD 305. Pri nadaljnji oceni tveganja uporabljamo dve mejni vrednosti. Če je $BCF_{FISH} > 100$ L/kg, je potrebna dodatna ocena sekundarne zastrupitve z računsko metodo. Če pa je presežena vrednost $BCF_{FISH} > 2000$, je potrebno izdelati oceno kot v primeru spojin, ki jih uvrščamo med PBT. Smernice ne predpisujejo načina ocene sekundarne zastrupitve z računsko metodo. Lahko pa uporabimo smernice z drugih regulatornih področji (veterinarska zdravila (11), REACH (7) oz. Okvirna direktiva o vodah (12)).

6 OCENA TVEGANJA

Osnovi vsake ocene tveganja sta ocena izpostavljenosti in izračun koncentracije snovi, pod katero ni pričakovati neželenih učinkov ter primerjava le-teh.

Smernice podajajo navodila za izdelavo ocene druge faze za snovi, za katere v prvi fazi ni bilo mogoče zagotoviti, da je uporaba varna. Smernice v tej fazi omogočajo dvostopenjski sistem odločanja. Stopnja A podaja osnovne metode izračuna izpostavljenosti okolja (PEC), ki upoštevajo najslabši možni scenarij. Najslabši možni scenarij je koncept pri obvladovanju tveganj, pri katerem upoštevamo najslabši realistični scenarij izpostavljenosti, ki ga je še moč pričakovati v dani situaciji. Da bi poenostavili metode izračuna, so privzete vrednosti določene tako, da pri normalni uporabi izračunanih vrednosti v okolju običajno ni moč preseči.

V kolikor ocena stopnje A pokaže, da tveganje ni sprejemljivo, pa nam smernice ponujajo tudi orodja za izpopolnitev

Preglednica 2 Kriterij za oceno tveganja za organizme v prsti (5).

Table 2 Combined trigger value for risk assessment of soil organisms (5).

Koc_{SLUDGE} * [L/kg]	$PECSW$ [μ g/L]
$Koc_{SLUDGE} \geq 10.000$	Sproži oceno tveganja ne glede na PEC_{sw}
$5.000 \leq Koc_{SLUDGE} < 10.000$	≥ 1
$2.500 \leq Koc_{SLUDGE} < 5.0000$	≥ 2
$1.000 \leq Koc_{SLUDGE} < 2.500$	≥ 3
$Koc_{SLUDGE} < 1.000$	Ne sproži ocene tveganja ne glede na PEC_{sw}

* Kadar imamo za KOC_{SLUDGE} tri ali več meritev, uporabljamo geometrično sredino. Kadar pa imamo le dve meritvi, je potrebno uporabiti najvišjo vrednost.

ocene izpostavljenosti ter omogočajo vpeljavo ukrepov za zmanjšanje tveganja (stopnja B). To daje bolj realno oceno izpostavljenosti okolja, vendar zahteva dodatne meritve izpostavljenosti ali ukrepe za obvladovanje tveganja.

Smernice podajajo tudi navodila za izračun koncentracije snovi, pod katero ni več mogoče pričakovati neželenih učinkov na okolje (PNEC), z uporabo podatkov eksperimentalnih metod in faktorjev ocenjevanja. Izpeljava PEC in PNEC je določena za vsak del okolja in kadar je razmerje PEC/PNEC ≥ 1 , je tveganje nesprejemljivo. V nadaljevanju opisujemo le oceno stopnje A, ki običajno zadostuje za opredelitev tveganja.

6.1 OCENA TVEGANJA ZA POVRŠINSKE VODE

Da bi določili potencialno tveganje za površinske vode, primerjamo PEC_{SW} (izračunan v prvi fazi, enačba 1) s $PNEC_{SW}$. $PNEC_{SW}$ določimo iz eksperimentalnih podatkov o toksičnosti za vodne organizme (preglednica 2) za vrste treh trofičnih ravni (alge, nižji raki, ribe) v vodnem okolju. Za določitev PNEC uporabljamo bodisi NOEC bodisi EC10 najboljčutljivejše vrste, ki ga dodatno še delimo s faktorjem ocenjevanja 10. Oceno tveganja nato izračunamo kot razmerje $PEC_{SW}/PNEC_{SW}$. Kadar je razmerje PEC/PNEC < 1 , sklepamo, da učinkovina ne bo predstavljala tveganja za površinske vode, in nadaljnje ocenjevanje ni potrebno. Kadar pa je razmerje PEC/PNEC ≥ 1 , je potrebno izpeljati oceno po smernicah, opisanih v stopnji B.

6.2. OCENA TVEGANJA ZA SEDIMENT

Ocena izpostavljenosti temelji na rezultatih študije absorpcije/desorpcije na najmanj treh vrstah prsti, pri čemer uporabljamo najvišjo vrednost porazdelitvenega koeficienta (Koc), kadar so na voljo študije treh prsti, oz. srednjo vrednost Koc, kadar so na voljo študije štirih ali več prsti. Na podlagi tako določenega Koc nato izračunamo porazdelitveni koeficient med suspendirano snovjo in vodo ($K_{SUSP-WATER}$). Koncentracijo aktivne snovi v sedimentu nato izračunamo v skladu z enačbo 2 (5):

$$PEC_{SW} = \frac{DOSE_{AS} \times F_{PEN}}{WASTE_{INHAB} \times DILUTION} \quad \text{enačba 2}$$

Pri izračunu potrebujemo naslednje parametre:

- $K_{SUSP-WATER}$, porazdelitveni koeficient med suspendiranimi snovmi in vodo
- r_{SUSP} , gostota suspendiranih snovi [kg/m^3], privzeta vrednost: 1.150

- PEC_{SW} , predvidena koncentracija v okolju za površinske vode [mg/L], gl. enačbo 1

Za določitev PNEC za sediment ($PNEC_{SED}$) je potrebno izdelati najmanj eno študijo toksičnosti za sediment (preglednica 1). Prednostno uporabljamo metode s standardnim dodatkom. Če to ni mogoče, lahko uporabimo tudi drugo, bolj primerno metodo. Za določitev PNEC uporabimo bodisi NOEC bodisi EC10. Rezultate toksičnosti za sediment je pred izračunom PNEC potrebno še normalizirati na sediment s standardno vsebnostjo ogljika (10 %) v skladu z enačbo 3 (5):

$$EC10_{ST} \text{ ali } NOEC_{ST} = EC10 \text{ ali } NOEC \times \frac{FOC_{ST}}{FOC_{TEST}} \quad \text{enačba 3}$$

Pri izračunu uporabljamo naslednje parametre:

- FOC_{ST} , delež organskega ogljika v standardnem sedimentu (*Free Organic Carbon in Standard Sediment*), privzeta vrednost: 0,1
- FOC_{TEST} , delež organskega ogljika v testiranem sedimentu (*Free Organic Carbon in Tested Sediment*)

PNEC nato izračunamo z uporabo faktorja ocenjevanja 100, če je izdelana zgolj ena študija ($PNEC = NOEC$ ali $EC10/\text{faktor ocenjevanja}$).

V primeru, da je izdelanih več študij, pa lahko uporabimo najnižji EC10 ali NOEC ter faktor ocenjevanja 50.

6.3 OCENA TVEGANJA ZA ČISTILNE NAPRAVE

PEC za čistilno napravo (PEC_{STP}) izračunamo na podlagi PEC_{SW} . Skladno s smernicami PEC_{SW} pomnožimo s faktorjem 10, saj je potrebno upoštevati, da v čistilni napravi ne prihaja do redčenja s pritoki, kot je to pravilo v površinskih vodah. $PNEC_{STP}$ pa določimo na podlagi preskusa inhibicije respiracije aktivnega blata (OECD 209), pri čemer NOEC ali EC10 delimo s faktorjem ocenjevanja 10.

6.4 OCENA TVEGANJA ZA PODTALNICO

Pri izračunu PEC za podtalnico (PEC_{GW}) smernice predvidevajo, da snov vstopa v podtalnico izključno s filtracijo skozi rečno strugo, zato izračun temelji na PEC_{SW} . PEC_{SW} pomnožimo s faktorjem 0,25, da dobimo PEC_{GW} . Pri izračunu PNEC za podtalnico ($PNEC_{GW}$) uporabljamo $PNEC_{SW}$, ki ga delimo s faktorjem ocenjevanja 10, saj je ekosistem podtalnice zaradi manjše sposobnosti za okrevanje bolj občutljiv kot ekosistem površinskih voda.



6.5 OCENA TVEGANJA ZA PRST

Ocena izpostavljenosti upošteva uporabo blata čistilnih naprav kot glavno vstopno pot učinkovine v prst. V prvem koraku izračunamo začetno koncentracijo v tleh po prvi uporabi z uporabo predvidene koncentracije aktivne snovi v blatu. Izračun PEC_{SOIL} izvedemo v skladu z enačbo 4 (5):

$$PEC_{SOIL} = \frac{C_{SLUDGE} \times Appl_{SLUDGE}}{Depth \times Density} \quad \text{enačba 4}$$

Pri izračunu uporabljamo naslednje parametre:

- PEC_{SOIL} , predvidena koncentracija v prsti po prvem nanosu [mg/kg ww]
- C_{SLUDGE} , koncentracija snovi v blatu [mg/kg ww]
- $Appl_{SLUDGE}$, aplicirana letna količina blata [kg/m²], privzeta vrednost: 0,5
- Density, gostota mokre prsti [kg/m³], privzeta vrednost: 1.700

Za snovi, ki se kopičijo in se ne razgradijo zlahka, pa je potrebno oceniti tudi koncentracijo v tleh po ponovni uporabi blata.

$PNEC_{SOIL}$ pridobimo iz eksperimentalnih podatkov o dolgodobni ekotoksičnosti za mikroorganizme v tleh (nevretenčarji in rastline) (preglednica 1). Za določitev $PNEC_{SOIL}$ uporabljamo bodisi NOEC bodisi EC10 najobčutljivejše vrste, pri čemer slednjega delimo s faktorjem ocenjevanja 10.

7 PRILAGOJENA OCENA TVEGANJA ZA UČINKOVINE

Za učinkovine, ki imajo lahko negativne učinke tudi pri zelo nizkih koncentracijah (npr. kemični motilci endokrinega si-

Preglednica 3: Zahtevani testi za prilagojeno oceno tveganja za antibiotike.

Table 3: Tests required for a tailored antibiotic risk assessment.

Organizem	Metoda
<i>Anabaena flos-aquae</i> (cianobakterija)	OECD 201
<i>Synechococcus leopoliensis</i> (cianobakterija)	OECD 201
<i>Raphidocelis subcapitata</i> (zelena alga)	OECD 201
<i>Daphne magna</i> (nižji rak)	OECD 211

stema, antibiotiki), se zahteva prilagojena ocena tveganja (*tailored assessment*). Za antibiotike so tako predpisane dodatne zahteve za testiranje toksičnih učinkov na nižje razvitih vodnih organizmih, s katerimi določimo učinek (preglednica 3). Za določitev PNEC ponovno uporabimo NOEC ali EC10 najbolj občutljivega organizma, ki ga delimo s faktorjem ocenjevanja 10.

Kemični motilci endokrinega sistema vplivajo na delovanje endogenih hormonov že pri koncentracijah pg/L. Vplivajo na razvoj in razmnoževanje organizmov, rušijo hormonsko homeostazo v telesu, kar vodi do sprememb v njihovem razvoju in odraslem obdobju življenja. Če torej obstajajo dokazi, da lahko učinkovina vpliva na razvoj ali razmnoževanje, ki je posledica vpliva na hormonske receptorje, raven hormonov ali kakorkoli drugače spreminja aktivnost estrogenov, androgenov ali drugih steroidnih hormonov, je potrebno izdelati prilagojeno oceno tveganja. Prilagojena ocena tveganja mora temeljiti na mehanizmu delovanja posameznega kemičnega motilca endokrinega sistema. Preglednica 4 povzema eksperimentalne metode za to določanje, ki pa jih moramo smiselno izbrati glede na način delovanja kemičnega motilca endokrinega sistema. Za ke-

Preglednica 4: Pregled priporočenih metod za učinkovine z endokrinim mehanizmom delovanja (povzeto po 5).

Table 4: Overview of recommended methods for active substances with endocrine mechanism of action (summarized after 5).

Mehanizem delovanja	Priporočena metoda
Agonist estrogenskega receptorja	Preskus celotnega življenjskega cikla rib (DRP št. 95 / OECD 240)
Antagonist estrogenskega receptorja	Test spolnega razvoja rib (OECD 234) ali Preskus celotnega življenjskega cikla rib (DRP št. 95 / OECD 240)
Agonist androgenega receptorja	Test spolnega razvoja rib (OECD 234) ali Preskus celotnega življenjskega cikla rib (DRP št. 95 / OECD 240)
Antagonist androgenega receptorja	Preskus celotnega življenjskega cikla rib (DRP št. 95 / OECD 240)
Inhibicija aromataze	Test spolnega razvoja rib (OECD 234) ali Preskus celotnega življenjskega cikla rib (DRP št. 95 / OECD 240)
Agonist ali antagonist receptorja tiroidnega hormona	Analiza rasti in razvoja ličink dvoživk (OECD 241)

mične motilci endokrinega sistema z drugačnimi mehanizmi delovanja kot so opisani v preglednici 4, pa se mora ocenjevalec sam odločiti za uporabo primernega testa.

8 OCENA OBSTOJNOSTI, BIOAKUMULACIJE IN TOKSIČNOSTI (PBT)

Snovi, ki so obstojne, bioakumulativne in strupene (PBT), ter snovi, ki so zelo obstojne in zelo bioakumulativne (vPvB, *very persistent and very bioaccumulative*), so snovi, ki se kopičijo v organizmih in se zato ohranijo v okolju. Zaradi njihovih fizikalno-kemijskih lastnosti ni mogoče napovedati njihove usode v okolju in toksičnih učinkov, ki bi se lahko pojavili po daljši izpostavljenosti. Kronična izpostavljenost in dolgodobni kumulativni škodljivi učinki tako onemogočajo določitev PEC s standardnimi modeli ali eksperimentalnimi metodami. Zato je potrebno izvesti oceno PBT za vse snovi, tudi učinkovine, ki so dovolj lipofilne ($\log Kow > 4,5$), da se lahko akumulirajo v okolju. Dokončna ocena PBT pa se nato izvede skladno z metodologijo, zapisano v smernicah REACH za oceno PBT (13).

9 SKLEP

Cilj prenove smernic o oceni tveganja za okolje za humana zdravila je zagotoviti bolj dosleden in celovit pristop k oceni tveganja za okolje. Ne smemo pozabiti, da se za nekatera zdravila zahteva ocena tveganja še po drugih smernicah. Tako se zdravila, ki vsebujejo gensko spremenjene organizme (GSO), ocenjuje skladno z Oceno tveganja za okolje za humana zdravila, ki vsebujejo gensko spremenjene organizme (Modul 1.6.2) (14). Za radiodiagnostične in radioterapevtske medicinske snovi je potrebno upoštevati dodatne zahteve glede emisijskih standardov za sevanje, določene v Direktivi o določitvi temeljnih varnostnih standardov za varstvo pred nevarnostmi zaradi ionizirajočega sevanja (15). S prenovo trenutno veljavnih smernic (16) so uvedli pristop odločitvenega drevesa, ki nazorno prikazuje, za katere učinkovine se zahteva večji obseg testiranja in ocenjevanja tveganja. Pri tem so še posebej pomembne mejne vrednosti, ki so v prenovljenih smernicah bolj jasno definirane. Še vedno se ohranja mejna vrednost 0,01 mg/L

za predvidene koncentracije v okolju za površinsko vodo (PEC_{sw}), pod katero nadaljnja ocena tveganja za večino učinkovin ni potrebna. Izjema so tiste, ki lahko negativno vplivajo na organizme v okolju tudi pod to mejo (npr. antibiotiki, kemični motilci endokrinega sistema). Za slednje prenovljene smernice jasno definirajo način ocenjevanja tveganja. Dopolnjen je tudi kriterij za pripravo ocene tveganja za prst. V trenutni smernici je ocena tveganja za prst zahtevana, če je Koc v mulju čistilne naprave > 10.000 L/kg. Vendar pa so lahko snovi z nižjo adsorpcijsko afiniteto kljub temu prisotne v blatu v visokih koncentracijah, če je njihov izpust v okolje velik. Zato prenovljene smernice kot kriterij za pripravo ocene tveganja za prst vpeljujejo tudi PEC_{sw}, ki odraža količino izpuščene snovi v okolje. Prenovljene smernice tudi bolj jasno definirajo način izračuna predvidene koncentracije v okolju za vsak del okolja posebej (površinske vode, podtalnica, čistilna naprava, prst, sediment, sekundarna zastrupitev). Ponujajo tudi orodja za izpopolnitev ocene izpostavljenosti ter omogočajo vpejljavo ukrepov za zmanjšanje tveganja (stopnja B), če ocena stopnje A pokaže, da tveganje ni obvladljivo. Dvostopenjski pristop k ocenjevanju zmanjšuje tudi administrativno breme, saj se poglobljena ocena zahteva le za učinkovine, za katere se z osnovnimi izračuni ne dokaže varnosti uporabe. Poleg tega prenovljene smernice predpisujejo izvedbo ocene PBT skladno z metodologijo, zapisano v smernicah REACH za oceno PBT (13), s čimer zagotavljajo harmoniziran pristop k oceni PBT. Hkrati smernice spodbujajo izmenjavo obstoječih podatkov o spojini oz. učinkovini. Vsi ti ukrepi imajo tudi ugodne ekonomske učinke ter hkrati zmanjšujejo nepotrebna testiranja na živalih.

10 LITERATURA

1. *The Pharmaceutical Industry in Figures, Kay Data 2018. EFPIA [Internet]. [Cited 2019 Avgust 10]. Available from: https://efpia.eu/media/361960/efpia-pharmafigures2018_v07-hq.pdf*
2. Fent K, Weston AA, Caminada D. *Ecotoxicology of human pharmaceuticals. Aquat Toxicol.* 2006 Jun;76(2):122-59.
3. Isidori M, Lavorgna M, Russo C, Kundi M, Žegura B, Novak M, et al. *Chemical and toxicological characterisation of anticancer drugs in hospital and municipal wastewaters from Slovenia and Spain. Environ Pollut.* 2016 Dec;219:275-87.
4. Rizzo L, Manaia C, Merlin C, Schwartz T, Dagot C, Ploy MC, et al. *Urban wastewater treatment plants as hotspots for antibiotic resistant bacteria and genes spread into the environment: A review. Sci total environ,* 2013 Jan; 447:345-60.



5. *Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use (draft)*. EMEA/CHMP/SWP/4447/00 Rev. 1.
6. *Direktiva 2010/63/EU Evropskega parlamenta in Sveta z dne 22. septembra 2010 o zaščiti živali, ki se uporabljajo v znanstvene namene*. UL L 276, 33-79.
7. *Uredba (ES) št. 1907/2006 Evropskega Parlamenta in Sveta z dne 18. decembra 2006 o registraciji, evalvaciji, avtorizaciji in omejevanju kemikalij (REACH)*. UL L 396, 1-849.
8. *Uredba (EU) št. 528/2012 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 22. maja 2012 o dostopnosti na trgu in uporabi biocidnih proizvodov*. UL L 167, 1-123.
9. *Martín J, Camacho-Muñoz D, Santos JL, Aparicio I, Alonso E. Occurrence of pharmaceutical compounds in wastewater and sludge from wastewater treatment plants: removal and ecotoxicological impact of wastewater discharges and sludge disposal*. *J. Hazard. Mater.* 2012 Nov;40:239-40.
10. *Martín J, Santos JL, Aparicio I, Alonso E. Pharmaceutically active compounds in sludge stabilization treatments: anaerobic and aerobic digestion, wastewater stabilization ponds and composting*. *Sci Total Environ*, 2015 Jan;97:503-4.
11. *Guideline on environmental impact assessment for veterinary medicinal products in support of the VICH guidelines GL6 and GL38*. EMA/CVMP/ERA, 2005.
12. *Technical guidance for deriving environmental quality standards*. European commission, 2017.
13. *Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.11: PBT Assessment. Version 3.0*. European Chemicals Agency, 2017.
14. *Environmental risk assessments for medicinal products containing, or consisting of, genetically modified organisms (GMOs)*. European medicines agency, 2006; EMEA/CHMP/473191/06 - Corr.
15. *Direktiva Sveta 2013/59/Euratom z dne 5. decembra 2013 o določitvi temeljnih varnostnih standardov za varstvo pred nevarnostmi zaradi ionizirajočega sevanja in o razveljavitvi direktiv 89/618/Euratom, 90/641/Euratom, 96/29/Euratom, 97/43/Euratom in 2003/1 2013; UL L 13, 1-73*.
16. *Guideline on the environmental risk assessment of medicinal products for human use*. s.l. : European medicines agency, 2006; EMEA/CHMP/SWP/4447/00 corr 2.



LIFE FROM INSIDE