

INTERVENTI FORMATIVI IN MATERIA DI ECOREATI E DELITTI CONTRO L'AMBIENTE EX L. 68/2015 - CIG 9050193785 - CUP H31H16000030008 - 2021/D.01028

MODULO 17 - SOSTANZE E MISCELE PERICOLOSE
- DOTT. CELSINO GOVONI -



ECHA

European Chemicals Agency
Euroopan kemikaalivirasto
Europeiska kemikaliemyndigheten

Per le sostanze con quantità M/I superiore a 10 t/a è necessario predisporre un CSA:

- **Valutazione del pericolo per la salute: definizione della classificazione ed etichettatura della sostanza, **individuazione dei livelli derivati di non effetto (DNELs)****
- **Valutazione chimico-fisica: definizione della classificazione ed etichettatura della sostanza**
- **Valutazione del pericolo per l'ambiente: definizione della classificazione ed etichettatura della sostanza, derivazione delle concentrazioni previste di non effetto (PNECs)**
- **Valutazione delle sostanze PBT e vPvB confronto dei dati di degradazione, bioaccumulo e tossicità con i criteri contenuti nell'Allegato XIII del REACH.**

DNEL “dose derivata di non effetto”

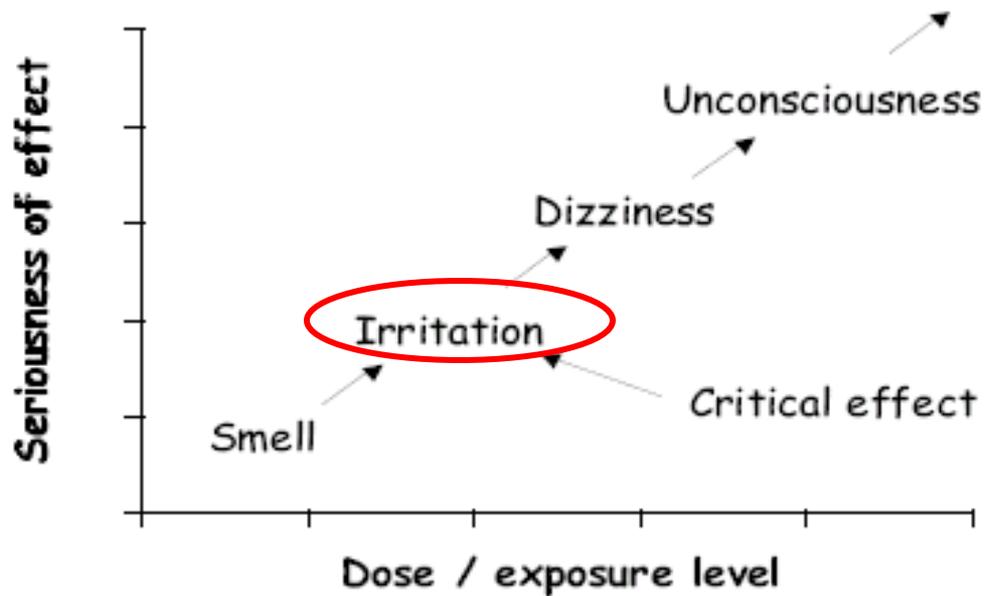
REACH Allegato I, 1.0.1.

È il livello di esposizione al di sopra del quale l'essere umano non dovrebbe essere esposto

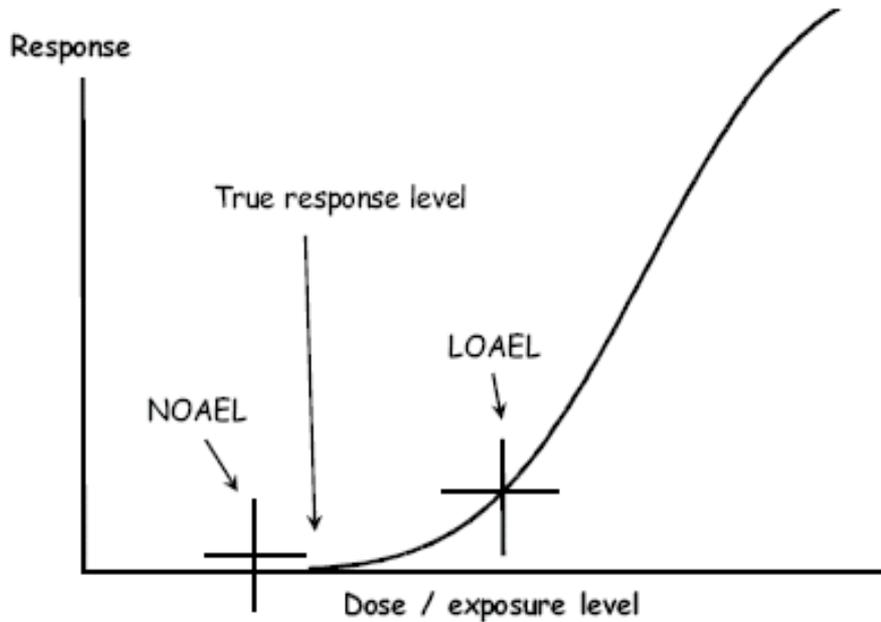
REACH Allegato I, 1.4.1.

Dovranno essere stabiliti i valori di DNEL per il profilo di esposizione (possibili vie, durata e frequenza di esposizione)

Che cos'è un affetto avverso (indesiderato, tossico)?

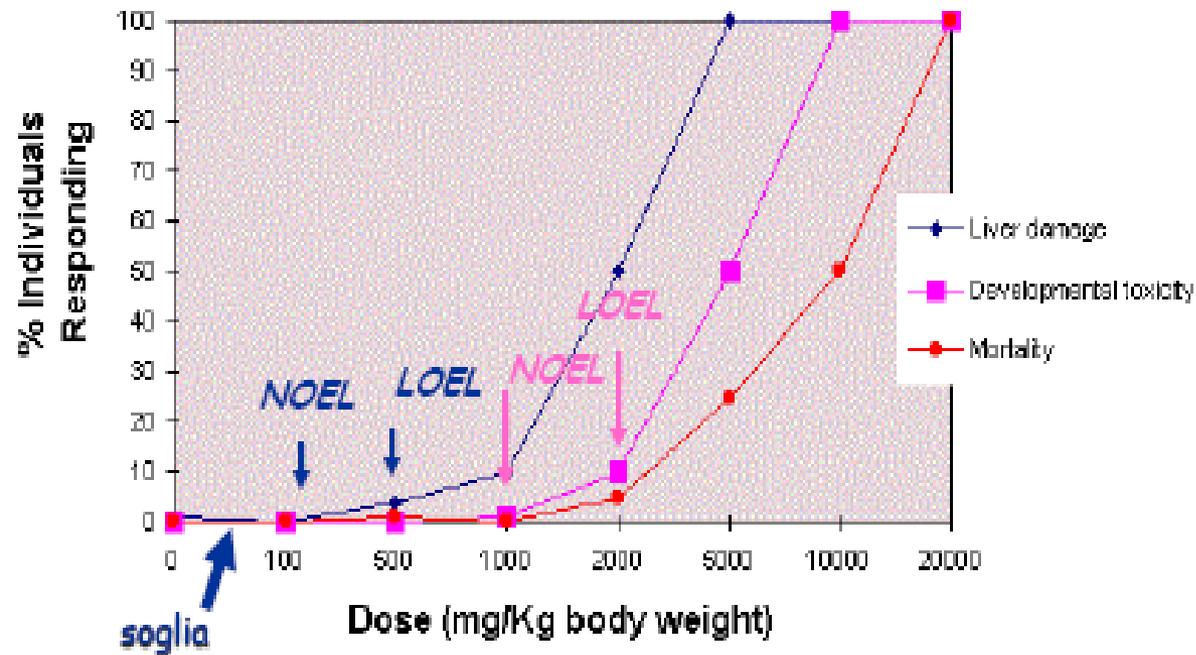


Che cosa sono il NOAEL e il LOAEL?



Quando lo si applica all' effetto critico si ottiene il **limite superiore di dose** che non determina effetti tossici.

Dose/Response Curve for Non-Carcinogen



L'elemento chiave per la caratterizzazione del rischio è il DNEL/DMEL

DNEL = Dose derivata di non effetto

DMEL = Dose derivata di minimo effetto

“livello di esposizione al di sotto del quale si assume che gli effetti avversi abbiano una probabilità tendente a zero di manifestarsi nelle popolazioni esposte”

$DNELs = NOAEL / AF's$

Per individuare il valore di DNEL/DMEL si dovranno esaminare i diversi effetti della sostanza e valutarli in base al profilo di esposizione:

Exposure pattern	DNEL/DMEL (appropriate unit)	
	Workers	General population ³
Acute – inhalation, systemic effects ¹	worker-DNEL acute for inhalation route-systemic	General population-DNEL acute for inhalation route-systemic
Acute – dermal, local effects ²	worker-DNEL acute for dermal route-local	General population-DNEL acute for dermal route-local
Acute – inhalation, local effects ²	worker-DNEL acute for inhalation route-local	General population-DNEL acute for inhalation route-local
Long-term – dermal, systemic effects ¹	worker-DNEL long-term for dermal route-systemic	General population-DNEL long-term for dermal route-systemic
Long-term – inhalation, systemic effects ¹	worker-DNEL long-term for inhalation route-systemic	General population-DNEL long-term for inhalation route-systemic
Long-term – oral, systemic effects ¹	Not relevant	General population-DNEL long-term for oral route-systemic
Long-term – dermal, local effects ²	worker-DNEL long-term for dermal route-local	General population-DNEL long-term for dermal route-local
Long-term – inhalation, local effects ²	worker-DNEL long-term for inhalation route-local	General population-DNEL long-term for inhalation route-local

AF's per la derivazione del DNEL:

- **Differenze tra specie e intraspecie**
- **Differenze nella durata dell'esposizione**
- **Incertezze nella estrapolazione "route-to-route"**
- **Problemi legati alla curva dose-risposta**
- **Altri aspetti come, ad esempio, la qualità dei dati vengono considerati alla fine della valutazione**

European Commission Report EUR 19253 EN:

Methodology for the derivation of occupational exposure limits

- Strategia per stabilire limiti per esposizione di breve tempo (15')
- Strategia sul modo di applicare fattori d'incertezza
- Strategia per attribuire la notazione "cute" (S)
- Interpretare i risultati degli studi neurocomportamentali
- Tossicità riproduttive
- Valutazione delle sostanze sensibilizzanti
- Valori limite biologici
- Valori limite di esposizione 8 h TWA
- Ruolo nel valutare carcinogeni chimici



1. Preparazione di un dossier o documento criterio
2. Valutazione di questo dossier e di tutti gli altri dati rilevanti
3. Elaborazione da parte dello SCOEL di una raccomandazione ai Servizi Comunitari per un OEL "scientifically health based limit"
4. Rendere pubblica questa raccomandazione a tutti gli interessati (Agenzie governative, industrie, organizzazioni sindacali) per commento scientifico ed, eventualmente, dati ulteriori
5. Proposta di una figura numerica di OEL da parte della Commissione
6. Consultazione con l' "Advisory Committee for Safety, Hygiene and Health Protection at Work" (Comitato Tripartito)
7. La direttiva proposta viene adottata

AF's per la derivazione del DNEL:

Assessment factor – accounting for differences in:		Default value systemic effects	Default value local effects
Interspecies	- correction for differences in metabolic rate per body weight	AS ^{a, b}	–
	- remaining differences	2.5	1 ^f 2.5 ^g
Intraspecies	- worker	5	5
	- general population	10 ^e	10 ^e
Exposure duration	- subacute to sub-chronic <small>Subacute: 28 d study</small>	3	3 ^h
	- sub-chronic to chronic <small>Subchronic: 90 d study</small>	2	2 ^h
	- subacute to chronic <small>Chronic: 1.5-2 y study</small>	6	6 ^h
Dose-response	- issues related to reliability of the dose-response, incl. LOAEL/NAEL extrapolation and severity of effect	1 ^d	1 ^d
Quality of whole database	- issues related to completeness and consistency of the available data	1 ^d	1 ^d
	- issues related to reliability of the alternative data	1 ^e	1 ^e

$$\text{DNEL} = \text{NOAEL}_{\text{corr}} / \prod (\text{AF}_i)$$

Parametri fisiologici a confronto

Species/ Physiological parameters	Rat	Human
Body weight	250 g	70 kg
Respiratory volume (standard; sRV)	0.2 l/min/rat = allometric scaling ^a 0.8 l/min/kg bw →	0.2 l/min/kg bw
for relevant duration:		
6 h exposure	0.29 m ³ /kg bw	5 m ³ /person
8 h exposure	0.38 m ³ /kg bw	6.7 m ³ /person
24 h exposure	1.15 m ³ /kg bw	20 m ³ /person
Respiratory volume light activity for worker (wRV)		
8 h exposure		10 m ³ /person

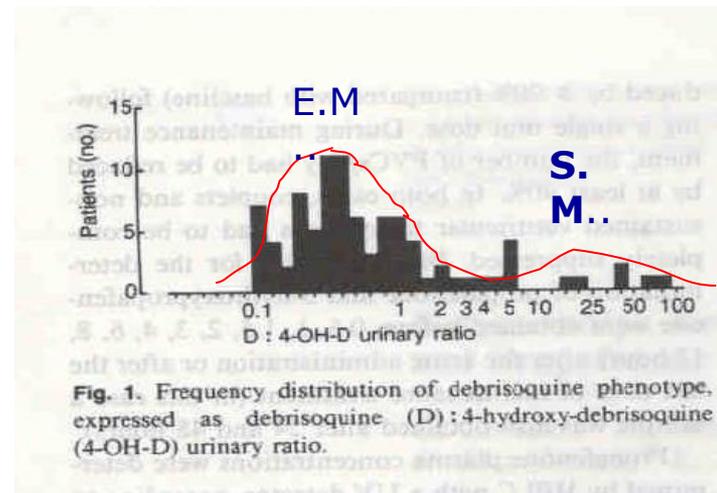
Differenze intraspecifiche AF's: allometric scaling

Species	Body weight (kg)	AS factor ^b
Rat	0.250	4
Mouse	0.03	7
Hamster	0.11	5
Guinea pig	0.8	3
Rabbit	2	2.4
Monkey	4	2
Dog	18	1.4

Differenze intraspecifiche

AF: 5

dovute a diversi
fattori biologici, come
ad esempio il
polimorfismo genetico



Differenze nella durata dell'esposizione

AF:

- da subcronico a cronico 2**
- da subacuto a subcronico 3**
- da subacuto a cronico 6**

Sono da utilizzarsi per effetti di tipo sistemico e, in caso di test per inalazione, per il danno tissutale locale del tratto respiratorio.

Incertezze relative al descrittore (curva dose-risposta) come surrogato del NAEL

Nel caso si utilizzi il LOAEL

AF: 3-10 dipendentemente:

- intervallo tra le dosi del test**
- forma e pendenza della curva**
- entità e severità dell'effetto osservato al LOAEL**

Facciamo un esempio!

Supponiamo di aver individuato come effetto critico per il glicole etere DEGME la tossicità per lo sviluppo e che esista solo uno studio che ha fornito un NOAEL di 50 mg/kg/die in seguito ad applicazione cutanea della sostanza nel coniglio.

Vogliamo valutare il DNEL per lo scenario di esposizione che prevede l'esposizione degli addetti per via inalatoria 8 ore al giorno.

Come procediamo?

Dal valore di riferimento determiniamo la dose corrispondente per la via inalatoria e applichiamo i AF

1. NOAEL: 50 mg/kg/die

2. Determiniamo la dose giornaliera per l'uomo: 3500 mg/die

**3. Il volume respiratorio è 10 350 mg/mc
mc/die:**

4. calcolo il DNEL

Orale a inalatorio x da coniglio a uomo x variabilità tra lavoratori

AF = 2 x 2.4 x 5 = 24

$$\text{DNEL}_{\text{inal, worker}} = 350/24 = 14,6 \text{ mg/mc}$$

E se per una sostanza che ha già un VLE?

- **“Nell’ambito degli ambienti di lavoro possono essere già definiti dei VLE.**

In certe situazioni i VLE e/o le informazioni alla base della definizione del valore del VLE possono essere utilizzate per derivare il valore del DNEL.”

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Property	IUCLID section	Value
Physical state at 20 C and 101.3 KPa	3.1	Colourless to slightly yellow volatile liquid with pungent odour (odour threshold of 0.15ppm)
Melting / freezing point	3.2	-30.6 °C
Boiling point	3.3	145-146°C (at 1 atmosphere)
Density	3.4 density	0.906 g/cm ³ at 20°C
Vapour pressure	3.6	5 mmHg (667 Pa) at 20°C
Surface tension	3.10	No value identified
Water solubility	3.8	300 mg/l at 20°C
Partition coefficient n-octanol/water (log value)	3.7 partition coefficient	<u>3.02</u>
Flash point	3.11	31 °C (open cup)
Flammability	3.13	1.1 – 6.1 (as % of air)
Explosive properties	3.14	Not explosive on basis of structure and oxygen balance calculations Heavy vapour may burn explosively if ignited in enclosed area
Auto flammability	3.12	490 °C
Vapour Density (air =1)	3.6	3.6

Conversion factors are 1 mg/m³ = 0.23 ppm; 1 ppm = 4.33 mg/m³

I valori variano da -4 a 8

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Classificazione EU (CLP)

Classificazione e indicazioni di pericolo:

Liquido infiammabile, categoria 3 **H226** Liquido e vapori infiammabili.

Tossicità per la riproduzione, categoria 2 **H361d** Sospettato di nuocere al feto.

Tossicità acuta, categoria 4 **H332** Nocivo se inalato.

Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione ripetuta, categoria 1

H372 Provoca danni agli organi in caso di esposizione prolungata o ripetuta.

Pericolo in caso di aspirazione, categoria 1 **H304** Può essere letale in caso di ingestione e di penetrazione nelle vie respiratorie.

Irritazione oculare, categoria 2 **H319** Provoca grave irritazione oculare.

Irritazione cutanea, categoria 2 **H315** Provoca irritazione cutanea.

Tossicità specifica per organi bersaglio - esposizione singola, categoria 3

H335 Può irritare le vie respiratorie.

Pericoloso per l'ambiente acquatico, tossicità cronica, categoria 3

H412 Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata.

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Effetti per la salute:

- tossicità acuta (depressione SNC)**
- irritazione pelle, occhi e apparato respiratorio**
- effetti sulla capacità discriminante i colori per esposizione prolungata**
- ototossicità per esposizione prolungata**
- tossicità per lo sviluppo**

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Endpoint	Quantitative dose descriptor or other information on potency		Associated relevant effect	Remarks on the study
	Local effect	Systemic effect		
Acute toxicity				
Inhalation		NOAEC 100 ppm (7-hour)	CNS depression	Human volunteer data
Irritation/corrosivity				
Eye	NOAEC 216 ppm (1-hour)		Eye and respiratory tract irritation from airborne vapour	Human volunteer data
Respiratory tract				
Repeated dose toxicity (sub-acute/sub-chronic/chronic)				
Inhalation (human)		NOAEC 50 ppm (8-hour TWA)	Effects on colour vision discrimination	Obtained from studies in workers using tests specifically designed to evaluate colour vision.
Inhalation (animal)		NOAEC 500 ppm	Effects on hearing (ototoxicity)	4 week study in the rat, exposure for 6 hours per day, 5 days per week.
Developmental toxicity				
Inhalation		NOAEC 150 ppm		2-generation study in the rat, exposure 6 hours per day, 7 days per week.

Nota: per l'esposizione dermica a breve termine non ci sono modelli per cui ci si riferisce al dato del lungo termine

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Caso n.1: Tossicità acuta-effetti sistemici-inalazione

Calcolare il valore del DNEL basato sugli effetti sistemici (depressione SNC) sulla base di uno studio recente in cui volontari sani sono stati esposti per 7 ore e dal quale è stato ricavato un NOAEC di 100 ppm (tenendo conto che i soggetti dello studio sono a riposo).

**Si tenga presente la regola di Haber modificata per l'equivalenza degli effetti a parità di dose:
 $C^n \cdot T = K$ (per n, valore default: 3)**

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Caso n.1: Tossicità acuta-effetti sistemici -inalazione

Si tratta di un effetto dose-dipendente

Correggiamo per il volume respiratorio:

$$100 \cdot 0,67 = 67 \text{ ppm}$$

Calcoliamo la dose sul breve termine (15'):

$$(67^3)^{1/3} \cdot (420/15)^{1/3} = 203 \text{ ppm}$$

$$\text{DNEL}_{\text{short term, inal}} = 203/5 = 41 \text{ ppm}$$

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Caso n.2: Tossicità acuta-effetti locali - irritazione e corrosività

Calcolare il valore del DNEL basato sugli effetti locali di irritazione oculare e respiratoria sulla base di uno studio recente in cui volontari sani sono stati esposti per 1 ora e dal quale è stato ricavato un NOAEC di 216 ppm.

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Caso n.2: Tossicità acuta-effetti locali - irritazione e corrosività

$$\text{DNEL}_{\text{inal}} = 216/5 = 43 \text{ ppm}$$

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Caso n.3: Tossicità cronica-effetti sistemici-discriminazione dei colori

Calcolare il valore del DNEL basato sugli effetti sistemici sulla base di uno studio recente su lavoratori e dal quale è stato ricavato un NOAEC di 50 ppm (TWA 8 ore).

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

**Caso n.3: Tossicità cronica-effetti sistemici-
discriminazione dei colori**

$$\text{DNEL}_{\text{long term, inal}} = 50 / 5 = 10 \text{ ppm}$$

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Caso n.4: Tossicità cronica-effetti sistemici- ototossicità

Calcolare il valore del DNEL basato sugli effetti sistemici sulla base di uno studio recente su ratti esposti per 4 settimane, per 6 ore al giorno e per 5 giorni alla settimana e dal quale è stato ricavato un NOAEC di 500 ppm

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Caso n.4: Tossicità cronica-effetti sistemici- ototossicità

Correggo per la durata giornaliera e volume respiratorio :
 $500 \cdot 6/8 \cdot 0,67 = 253 \text{ ppm}$

$\text{DNEL}_{\text{long term, inal}} = 253 / 2,5 \cdot 5 = 20 \text{ ppm}$

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Caso n.5: Tossicità cronica-effetti sistemici- riproduzione

Calcolare il valore del DNEL basato sugli effetti sistemici sulla base di uno studio recente alla seconda generazione su ratti esposti per 6 ore al giorno e per 7 giorni alla settimana e dal quale è stato ricavato un NOAEC di 150 ppm

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Caso n.5: Tossicità cronica-effetti sistemici- riproduzione

Correggo per la durata giornaliera e volume respiratorio :
 $150 \cdot 6/8 \cdot 7/5 \cdot 0,67 = 106 \text{ ppm}$

$\text{DNEL}_{\text{long term, inal}} = 106 / 2,5 \cdot 5 = 8 \text{ ppm}$

$\text{DNEL}_{\text{long term, derm}} = ?$

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

- Nel corso del trattamento per via inalatoria è stato eseguito un dosaggio per via orale che ha permesso di stabilire su base cinetica la seguente equivalenza:
150 ppm (inalatorio)= 120 mg/Kg/ die (orale)**
- L'assorbimento gastrointestinale è del 100%, mentre quello dermico è del 2%**

Correggiamo per la dose assorbita per via cutanea: 6000 mg/Kg/ die

Correggiamo gli AF: $6000/4 \times 2.5 \times 5 = 120$ mg/Kg/ die

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

I valori di riferimento calcolati sono pertanto:

DNEL inal, long term	8 ppm
DNEL inal, short term	41 ppm
DNEL derm, long term	120 mg/Kg/die

STUDI RECENTI (2009)

OEL vs. DNEL or Expert Judgement vs. Default Factors

Reference Values under REACH Exemplified by Styrene

OEL vs. DNEL or Expert Judgement vs. Default Factors
Reference Values under REACH Exemplified by Styrene
Claudia Schäfer, Susanne B. Dorn, Cemile Jakupoglu, Volker Mostert
Dr. Kniesel Consult GmbH, Dynamisstr. 19, 68165 Mannheim, Germany. Email: c.schaef@kniesel-consult.com

INTRODUCTION
A crucial step in human health risk assessment under REACH legislation is the setting of Derived No-Effect Levels (DNELs). Representing safe exposure levels for humans, they serve as reference values for possible exposure scenarios, including workplace exposure. For many compounds, Occupational Exposure Limits (OELs) exist, set by scientific committees of EU Member States or European institutions. At this point controversy may arise, since DNELs can come into conflict with existing OELs. In addition, different DNELs may be proposed by different registrants for a single substance.

BACKGROUND
Styrene is primarily a synthetic chemical and an important intermediate for chemical synthesis and monomer for plastics manufacture. It is used in various products from food containers and packaging materials to cars, boats and computers. Health effects from exposure to styrene may involve the central nervous system. The International Agency for Research on Cancer (IARC) classifies styrene as a potential human carcinogen.

What are the consequences of different limit values for a single compound on the market? Which one should be legally binding? What if the proposed DNEL is lower than an existing OEL? Would the adherence to existing higher OELs lead to an insufficient protection of workers?

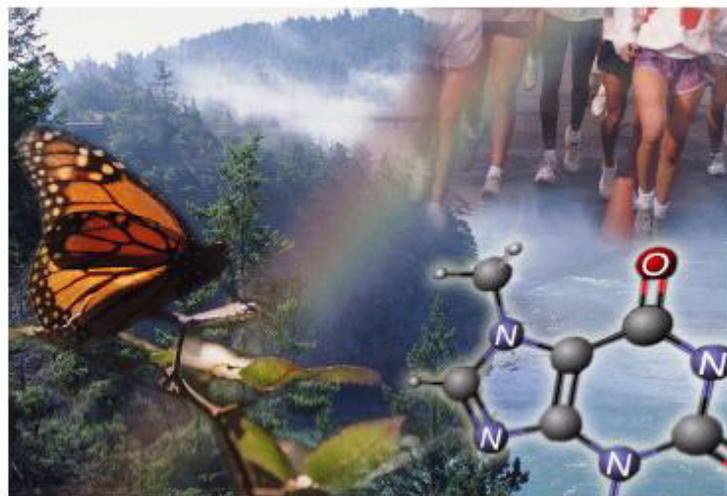
Exemplified by styrene we evaluated different ways of setting DNELs, thereby either considering or ignoring styrene's mode of action (MoA) and the consequential interspecies differences in toxicokinetics and -dynamics. The outcome of these approaches is compared to the German MAK value.

Testing for carcinogenicity in animals revealed that styrene is able to induce lung tumours in mice, but not in rats. The susceptibility of mice to development of lung tumours in comparison to rats or humans is linked to the following key factors:

- *The number of Clara cells (being both responsible for the formation of toxic metabolites and the target for their toxic action); comprise about 80% of bronchiolar epithelium in mice and 25% in rats, whereas in humans such cells are rare!
- *The level of CYP2E1 required for the formation of SO and downstream metabolites of 4-VP
- *Taking account both of the bioactivation to SO and its detoxification, the

Endpoint	DNEL-setting (chronic worker exposure via inhalation)		German MAK value
	Default factors (ignoring styrene's MoA)	Expert judgement (considering styrene's MoA)	
Colour discrimination (human, 8h TWA)	NOAEC = 50 ppm intraspecies: 5 DNEL = 10 ppm	NOAEC = 50 ppm (Interindividual variability has been accounted for by a large number of volunteers.) DNEL = 50 ppm	MAK = 20 ppm The human carcinogenic risk of styrene has been estimated on the basis of long-term and toxicokinetic studies in mouse, rat and man ⁹⁻¹² .
Otototoxicity (rat, 4w)	NOAEC = 300 ppm interspecies: 2.5; intraspecies: 5; duration of exposure: 6; time-scaling: 6h/8h DNEL = 300x0.75/(2.5x5x6) = 3 ppm	NOAEC = 300 ppm interspecies: 2.5; intraspecies: 5; time-scaling: 6h/8h (Continued treatment does not enhance the intensity of the ototoxic response.) DNEL = 300x0.75/(2.5x5) = 18 ppm	The risk of developing cancer in 40 years of occupational exposure (8h/d, 5d/w, 48w/y) to 20 ppm styrene is smaller than the unavoidable risk caused by endogenous ethylene oxide.
Long-term toxicity (mouse/rat, 2y)	LOAEC = 20 ppm (mouse) dose response: 3; interspecies: 2.5; intraspecies: 5; time-scaling: 6h/8h DNEL = 20x0.75/(3x2.5x5) = 0.4 ppm	NOAEC = 1000 ppm (rat) interspecies: 2.5; intraspecies: 5; time-scaling: 6h/8h DNEL = 1000x0.75/(2.5x5) = 60 ppm	

Guidance on
information requirements and
chemical safety assessment
Chapter R.8: Characterisation of dose
[concentration]-response for human
health



May 2008

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Proviamo a fare un confronto!

DNEL inal, long term	4 ppm
DNEL inal, short term	41 ppm
DNEL derm, long term	60 mg/Kg/ die

I valori di riferimento SCOEL: nessuno

I valori di riferimento ACGIH:

TLV-TWA	20 ppm
TLV- STEL	40 ppm

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

In conclusione:

I valori di DNEL ricavati possono essere differenti per i diversi valutatori (di qui l'importanza dei SIEF)

Esercitazione: Valutazione del valore DNEL per lo stirene.

Vediamo il confronto con alcuni dati dal comparto VTR in provincia di Forlì per esposizioni giornaliere (ppm):

Barche	N. oss.	Min	Max	GM	GSD
SP	82	5	103	38	1,84
SM	29	5	72	22	2,08

Chemical	Health-Based OEL	EU IOEL	National OEL	DNEL	Company OEL
Chemical S	1 ppm	---	5 ppm	~ 0.1 ppm	---
A Glycol Ether	5 ppm	---	2 ppm	~ 1.6 ppm	---
Chemical C	100 ppm	200 ppm		~ 50 ppm	---
Chemical MA	200 ppm	---	200 ppm	~ 10 ppm	---
Chemical PP	50 ppm	---	20-25 ppm	~ 5 ppm	---
Chemical M	200 ppm	200 ppm	200 ppm	~ 55 ppm	

da: R. Roy, 3M Medical Dept., 2009

Lo strumento con il quale verranno valutati i rischi lavorativi in ambito REACH è costituito anche dai DNEL (Derived No Effect Level)

DNEL sono disponibili per tutte le sostanze REACH (> 10 t)

- e saranno contenuti nelle schede di sicurezza estese "eSDS"
(se pericolose)

DNEL saranno derivati dall'industria secondo un protocollo definito dal REACH:

- e saranno relativi per le diverse vie inalazione, cutanea e ingestiva (solo popolazione generale)
- relativamente alle esposizioni di breve e lungo termine



Ci aspettiamo quindi differenze , ma.....

**L'ipotesi di assumere i
valori di DNEL come soglia
di rischio irrilevante per
la salute è**

INCONSISTENTE!!!!

