

*ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ ΘΕΣΣΑΛΙΑΣ*

*ΤΜΗΜΑ ΛΑΡΙΣΑΣ*

*ΤΟΜΕΑΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ*

## **ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ**

**ΘΕΜΑ: ΣΥΛΛΟΓΗ ΚΑΙ ΕΚΤΙΜΗΣΗ ΤΩΝ ΥΠΑΡΧΟΝΤΩΝ  
ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΟΥ ΕΝΔΙΑΦΕΡΟΝΤΟΣ ΓΙΑ  
ΤΗ ΤΑΞΗ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΜΕΤΑΛΛΑΞΙΓΕΝΕΣΗ ΜΕ ΤΗ ΧΡΗΣΗ ΤΟΥ  
ΕΡΓΑΛΕΙΟΥ ΑΞΙΟΠΙΣΤΙΑΣ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ ToxRTool, ΓΙΑ ΤΗΝ ΟΥΣΙΑ  
ΜΕΤΑΒΑΛΛΟΜΕΝΗΣ ΣΥΝΘΕΣΗΣ ΡΙΓΑΝΕΛΑΙΟ**



*ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΗ ΦΟΙΤΗΤΡΙΑ  
ΣΤΟΝ ΤΟΜΕΑ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ  
ΗΡΩ ΨΙΛΟΥ  
Α.Μ. Μ041820022*

**COLLECTION AND EVALUATION OF EXISTING  
EXPERIMENTAL DATA OF TOXICOLOGICAL  
INTEREST TO HAZARD CLASS OF MUTAGENICITY,  
USING ToxRTool, A REABILITY DATA TOOL, FOR  
THE SUBSTANCE WITH VARIABLE COMPOSITION,  
ORGANUM OIL**

ΕΠΙΒΛΕΠΩΝ ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ: ΝΕΠΚΑ ΧΑΡΙΤΙΝΗ

ΤΡΙΜΕΛΗΣ ΕΠΙΤΡΟΠΗ:

ΝΕΠΚΑ ΧΑΡΙΤΙΝΗ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ, ΙΑΤΡΟΣ-ΚΥΤΤΑΡΟΠΑΘΟΛΟΓΟΣ

ΤΣΙΤΣΙΜΠΙΚΟΥ ΧΡΙΣΤΙΝΑ, ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ, ΓΕΝΙΚΟ ΧΗΜΕΙΟ ΤΟΥ  
ΚΡΑΤΟΥΣ, ΕΘΝΙΚΟ ΓΡΑΦΕΙΟ ΣΤΗΡΙΞΗΣ REACH & CLP, ΕΠΙΤΙΜΗ ΓΕΝΙΚΗ  
ΓΡΑΜΜΑΤΕΑΣ ΕΛΛΗΝΙΚΗΣ ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΚΗΣ ΕΤΑΙΡΕΙΑΣ

ΚΟΥΡΕΤΑΣ ΔΗΜΗΤΡΙΟΣ, ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΦΥΣΙΟΛΟΓΙΑΣ ΖΩΙΚΩΝ  
ΟΡΓΑΝΙΣΜΩΝ-ΤΟΞΙΚΟΛΟΓΙΑΣ

# Περιεχόμενα

|   |    |
|---|----|
| ΕΙΣΑΓΩΓΗ.....   | 4  |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.....   | 5  |
| ΠΙΤΑΝΕΛΑΙΟ.....   | 5  |
| 1.1 Ιστορική αναδρομή.....                                    | 5  |
| 1.2 Η ουσία Πηγανέλαιο.....                                   | 5  |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2ο.....  | 7  |
| ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ.....  | 7  |
| 2.1 Συλλογή Υπαρχόντων Πειραματικών Δεδομένων.....            | 7  |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3ο.....  | 12 |
| ΤοxRTool -Toxicological data Reliability Assessment Tool..... | 12 |
| 3.1 Τεχνικά.....  | 12 |
| 3.2 Δομή ΤοxRTool.....  | 14 |
| 3.3 Λειτουργία του εργαλείου ΤοxRTool.....                    | 16 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4ο.....  | 18 |
| 4.1 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΥΠΑΡΧΟΝΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ.....         | 18 |
| 4.2 Έλεγχος Δεδομένων Δοκιμών.....                            | 20 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5ο.....  | 22 |
| ΦΑΚΕΛΟΣ ΚΑΤΑΧΩΡΗΣΗΣ.....                                      | 22 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6ο.....  | 24 |
| ΤΑΣΕΙΣ ΚΑΙ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΓΙΑ ΤΗΝ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗ ΥΓΕΙΑ.....   | 24 |
| ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7.....   | 27 |
| ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΑΡΘΡΩΝ.....               | 27 |
| ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ.....   | 36 |
| ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ.....   | 37 |

## ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η παραγωγή νέων χημικών ουσιών είναι ένα από τα σημαντικότερα επιτεύγματα των τελευταίων ετών, ως αποτέλεσμα της συνεχώς αυξανόμενης ανάγκης της βιομηχανίας αλλά και των ίδιων των καταναλωτών για την χρήση νέων προϊόντων. Εκατομμύρια χημικές ουσίες διακινούνται στο εμπόριο είτε ως αυτοτελής ουσίες, είτε ως παρασκευάσματα και εντοπίζονται τόσο στην βιομηχανία, όσο και στην καθημερινότητα των καταναλωτών. Οι επιστήμες γενικά, αλλά και πιο ειδικά η επιστήμη της Χημείας, έχει συμβάλει καθοριστικά στην βελτίωση της ποιότητας ζωής του ανθρώπου αλλά και στην προστασία του περιβάλλοντος, με την ανακάλυψη διάφορων χημικών ουσιών που χρησιμοποιούνται σήμερα για την θεραπεία διάφορων ασθενειών που αντιμετωπίζει ο άνθρωπος στις σύγχρονες κοινωνίες, αλλά και με την ανακάλυψη ουσιών ευεργετικών για το έδαφος και τα φυτά. Ωστόσο οι χημικές αυτές ουσίες ελλοχεύουν και διάφορους κινδύνους, ιδιαίτερα σημαντικούς για την υγεία του ανθρώπου και τους περιβάλλοντος. Ένα ευρέως γνωστό παράδειγμα είναι η σχέση αμιάντου και καρκίνου που διαπιστώθηκε στην Μ. Βρετανία τον προπερασμένο αιώνα, γεγονός που χρειάστηκε πολλά χρόνια αλλά και αμέτρητους θανάτους για να απαγορευτεί η ουσία αυτή. Είναι συνεπώς αναγκαίο να περιοριστεί η αλόγιστη χρήση χημικών ουσιών, είτε από άγνοια είτε από αδιαφορία, αλλά και να ελεγχθεί η διάθεση αυτών στην αγορά, προκειμένου να περιοριστούν και αν είναι δυνατόν να εξαλειφθούν τα προβλήματα που προκαλούν.

Έτσι λοιπόν, στην Ευρώπη είχε ήδη ξεκινήσει από τη δεκαετία του 1960 η προσπάθεια για την εφαρμογή νόμων, που θα στόχευαν στην προστασία τόσο του ανθρώπινου είδους, όσο και του περιβάλλοντος στο οποίο ζει από επικίνδυνες χημικές ουσίες. Η προσπάθεια αυτή διήρκεσε πολλά χρόνια και χρειάστηκαν πολλές αλλαγές και πολλοί νομοθετικές ρυθμίσεις στο να οδηγηθούμε το 2006 στην δημιουργία του κανονισμού REACH, ενός ενιαίου συστήματος και ολοκληρωμένου κανονιστικού πλαισίου, για την καταχώρηση (Registration), την αξιολόγηση (Evaluation), την αδειοδότηση (Authorization) και τον περιορισμό των χημικών προϊόντων (Chemicals). Στόχος της παρούσας μελέτης είναι να μελετηθεί η ουσία ριγανέλαιο και να αξιολογηθεί κατά πόσο μπορεί να χρησιμοποιηθεί στην δημιουργία περαιτέρω ουσιών που θα βελτιστοποιήσουν την ποιότητα ζωής του ανθρώπου ή κατά πόσο η χρήση της μπορεί να οδηγήσει σε μεταλλαξιογένεση.

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 1.

### ΡΙΓΑΝΕΛΑΙΟ

#### 1.1 Ιστορική αναδρομή.

Από τα αρχαία χρόνια τα φυσικά προϊόντα φυτικής προέλευσης έχουν χρησιμοποιηθεί στην παραδοσιακή ιατρική για την θεραπεία διάφορων ασθενειών. Στα μεταγενέστερα χρόνια έγινε φανερό, ότι η ανάπτυξη νέων φαρμακευτικών προϊόντων που βασίζονται σε βιοενεργά φυσικά προϊόντα θα καθορίσουν το μέλλον στην παγκόσμια ιατρική κοινότητα. Από την ταυτοποίηση και την απομόνωση της μορφίνης, της πρώτης φαρμακευτικής ουσίας από το φυτό *opium* το 1805, έχουν εντοπιστεί πολλές βιοδραστικές ουσίες, οι οποίες απομονώνονται από διάφορα φυτά, ανοίγοντας έτσι το δρόμο για την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών ενώσεων για την αντιμετώπιση διάφορων ασθενειών που αντιμετωπίζει ο άνθρωπος.

#### 1.2 Η ουσία Ριγανέλαιο

Η εντατική έρευνα των τελευταίων ετών οδήγησε στην ταυτοποίηση και την απομόνωση πολλών διατροφικών ενώσεων φυτικής προέλευσης με χημειοπροληπτικό δυναμικό. Για παράδειγμα τα αιθέρια έλαια διάφορων βρώσιμων φυτών έχουν αποδειχθεί ότι έχουν σημαντική αντινεοπλασματική και χημειοπροληπτική δράση έναντι του καρκίνου του παχέος εντέρου. Το *Origanum onites* L. (*O. onites*) είναι φυτό του γένους *Origanum* (ριγανέλαιο), πλούσιο σε πτητικά έλαια, περιλαμβάνοντας κυρίως καρβακρόλη και θυμόλη. Το αιθέριο έλαιο που εξάγεται από το *O. Onites* έχει προκαλέσει επιστημονικό ενδιαφέρον καθώς παρουσιάζει ένα ευρύ φάσμα βιολογικών δραστηριοτήτων όπως:

- αντιμυκητιακές,
- αντιμικροβιακές,
- αντιοξειδωτικές,
- εντομοκτόνο,
- ηπατοπροστατευτική και
- κυτταροτοξική δράση.

Επιπλέον διάφορα εκχυλίσματα του φυτού έχουν αναφερθεί ότι παρουσιάζουν αντιπολλαπλασιαστικές ιδιότητες κατά των καρκινικών κυττάρων *in vitro*. Στο εκχύλισμα του ριγανέλαιου έχουν ανιχνευθεί 64 χημικές ουσίες, με κυριότερες και σε μεγαλύτερο ποσοστό αυτές των οξυγονωμένων μονοτερπενίων και των μονοτερπενικών υδρογονανθράκων. Από την πρώτη κατηγορία ξεχωρίζουν σε υψηλά ποσοστά η καρβακρόλη, η θυμόλη, η β-φενυχλική αλκοόλη και η δ-τερπινεόλη. Από τους μονοτερπενικούς υδρογονάνθρακες ξεχωρίζουν το γ-τερπινένιο και το α-τερπινένιο. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι το βενζόλιο καταλαμβάνει ένα επίσης σημαντικό κλάσμα του ελαίου. Από τις παραπάνω ουσίες είναι γνωστό ότι η καρβακρόλη, η θυμόλη και το γ-τερπινένιο διαθέτουν τόσο αντιοξειδωτικές ιδιότητες,

όσο και αντιβακτηριακή δράση κατά διάφορων βακτηρίων. Η χημική ουσία ριγανέλαιο μπορεί να παρουσιάσει και άλλους “χημικούς φαινοτύπους”, αλλάζοντας την αναλογία των δύο κύριων συστατικών της, της καρβακρόλης και της θυμόλης. Οι διαφορές αυτές οφείλονται σε διάφορους παράγοντες, όπως είναι η γεωγραφική προέλευση του φυτού, οι περιβαλλοντικές και κλιματικές συνθήκες που επικρατούν κατά την ανάπτυξή του, οι εποχιακές περίοδοι δειγματοληψίας ακόμα και οι μέθοδοι εξαγωγής και ποσοτικοποίησης αυτού.<sup>1,2</sup>



---

<sup>1</sup> Extraction, Chemical Composition, and Anticancer Potential of *Origanum onites* L. Essential Oil. Katerina Spyridopoulou, Eleni Fitsiou, Eleni Bouloukosta, Angeliki Tiptiri-Kourpeti, Manolis Vamvakias, Antigoni Oreopoulou, Eleni Papavassilopoulou, Aglaia Pappa and Katerina Chlichlia. Published: 18 July 2019

<sup>2</sup> Chemical composition and bioactivity of different oregano (*Origanum vulgare*) extracts and essential oil. Barbara Teixeira, Antonio Marques, Cristina Ramos, Carmo Serrano, Olívia Matos, Nuno R Neng, Jose M F Nogueira, Jorge Alexandre Saraiva and Maria Leonor Nunes. Published: 4 February 2013

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 2<sup>ο</sup>

### ΜΕΘΟΔΟΛΟΓΙΑ

#### 2.1 Συλλογή Υπαρχόντων Πειραματικών Δεδομένων

Η σύνταξη της εν λόγω εργασίας πραγματοποιήθηκε με την συλλογή υπαρχόντων πειραματικών αλλά και θεωρητικών δεδομένων, μέσα από την αναζήτηση και την αξιολόγηση των πιο αξιόπιστων άρθρων. Για το λόγο αυτό, η αναζήτηση αυτή έγινε σε αξιόπιστες πλατφόρμες, κυρίως στην πλατφόρμα PubMed.gov καθώς και στην πλατφόρμα GoogleScholar. Επιπλέον ένα μεγάλο μέρος των θεωρητικών δεδομένων αντλήθηκε από την ιστοσελίδα του οργανισμού ECHA, πλέον αρμόδιος για την μεθοδολογία αξιολόγησης μίας χημικής ουσίας.

Συνεπώς, μέσα από την πλατφόρμα PubMed.gov, αξιοποιήθηκαν και αξιολογήθηκαν με το εργαλείο ToxRTool 46 ερευνητικές εργασίες, μέσα στις οποίες αναφέρονται στοιχεία για την μεταλλαξιγένεση που πιθανόν να προκαλεί η ουσία μεταβαλλόμενης σύνθεσης ριγανέλαιο. Προκείμενου η αναζήτηση να είναι πλήρης και να μην χαθεί καμία χρήσιμη πληροφορία, χρησιμοποιήθηκαν εναλλακτικές ονομασίες της ουσίας ριγανέλαιο, όπως:

- origanum oil,
- origanum extract,
- origanum amanum,
- origanum onites,
- thymus capitatus,

όλες συνώνυμες της ουσίας, οι ονομασίες των οποίων είχαν προ-αναζητηθεί στην ίδια ακριβώς πλατφόρμα.

Οι περισσότερες εταιρείες στις μέρες μας, χρησιμοποιούν χημικές ουσίες με τον έναν ή με τον άλλον τρόπο, οι οποίες επηρεάζουν άμεσα τον τρόπο ζωής μας αλλά και την οικονομία μας, με αποτέλεσμα η διαχείρισή τους να έχει αναχθεί ως μία πράξη υψίστης σημασίας για τον άνθρωπο αλλά και το περιβάλλον<sup>3</sup>. Για τον λόγο αυτό ο Ευρωπαϊκός Οργανισμός Χημικών (ECHA) θέσπισε τον κανονισμό REACH, ο οποίος τέθηκε σε ισχύ την 1 Ιουνίου 2007, με σκοπό την καλύτερη προστασία της υγείας του ανθρώπου αλλά και του περιβάλλοντος από τους κινδύνους που μπορεί να ενέχουν τα χημικά προϊόντα που διακινούνται μέσα στην αγορά, αλλά και για την αύξηση της ανταγωνιστικότητας της χημικής βιομηχανίας στην ΕΕ.

Επιπλέον ο κανονισμός αυτός προάγει εναλλακτικές μεθόδους για την αξιολόγηση του κινδύνου που παρουσιάζουν οι ουσίες αυτές, με απώτερο σκοπό την μείωση του αριθμού των δοκιμών που διεξάγονται σε ζώα. Με τον κανονισμό REACH επιδιώκεται ο περιορισμός κυκλοφορίας στην αγορά και συνεπώς η χρήση από τους

---

<sup>3</sup><https://echa.europa.eu/el/support/getting-started>



καταναλωτές, άκρως επικίνδυνων χημικών ουσιών, αλλά και η καταγραφή όλων των υπόλοιπων χημικών ουσιών, των οποίων οι ιδιότητες ελλοχεύουν κινδύνους σε μικρότερο βαθμό και ανάλογα με την χρήση τους και την ποσότητα διάθεσής τους στην αγορά θα μπορούσαν να αποβούν μοιραίες για την υγεία του ανθρώπου αλλά και του περιβάλλοντος. Είναι σημαντικό να τονισθεί ότι ο κανονισμός REACH εφαρμόζεται για όλες τις χημικές ουσίες, ανεξάρτητα αν αυτές χρησιμοποιούνται στην βιομηχανία ή στην καθημερινή ζωή. Για παράδειγμα, μπορεί να εφαρμοστεί σε καθαριστικά προϊόντα, χρώματα, αλλά ακόμα και σε έπιπλα και ηλεκτρικές συσκευές. Συνεπώς ο κανονισμός αφορά την πλειονότητα των επιχειρήσεων της ΕΕ, αναθέτοντας τους την ευθύνη για την ορθή και πιστή εφαρμογή του.

Τα αρχικά του REACH αντιπροσωπεύουν τις παρακάτω έννοιες, τις οποίες οφείλει να εφαρμόσει η εκάστοτε επιχείρηση προκειμένου να μπορεί να διακινεί την οποιαδήποτε ουσία στην αγορά:

- Registration = Καταχώριση
- Evaluation = Αξιολόγηση
- Authorization = Αδειοδότηση
- Restriction of Chemicals = Περιορισμοί των χημικών προϊόντων <sup>4</sup>

Σύμφωνα λοιπόν με τα παραπάνω, ακολουθείται μία διαδικασία για την κυκλοφορία ή μη μίας ουσίας στην αγορά, η οποία μπορεί να διαφέρει ανάλογα με το είδος της ουσίας, την ποσότητά της ή τα χαρακτηριστικά της. Αρχικά η επιχείρηση οφείλει να καταχωρίσει την ουσία που πρόκειται να διαθέσει στην αγορά, και για την καλύτερη λειτουργία του κανονισμού οφείλει να συνεργαστεί και με άλλες επιχειρήσεις που καταχωρίζουν επίσης την ίδια ουσία. Ο ECHA στην συνέχεια μελετά τις μεμονωμένες καταχωρίσεις προκειμένου να αποσαφηνίσει τυχόν ζητήματα που μπορεί να θέσουν σε κίνδυνο την υγεία του ανθρώπου και του περιβάλλοντος. Είναι σημαντικό να διαπιστωθεί μέσα από την μελέτη εάν οι κίνδυνοι αυτοί είναι διαχειρίσιμοι ή όχι. Στην περίπτωση που δεν είναι διαχειρίσιμοι οι αρχές μπορεί να απαγορεύσουν την κυκλοφορία της ουσίας αυτής, ή να περιορίσουν κάποια χρήση της ή να την επιτρέψουν κατόπιν αδειοδότησης. Για να διαπιστωθούν λοιπόν οι κίνδυνοι που μπορεί να ενέχει μία ουσία θα πρέπει να πραγματοποιηθούν κάποιες μελέτες, σύμφωνα με τον κανονισμό REACH, οι οποίες διαφοροποιούνται ανάλογα με την ποσότητα της ουσίας που θα εισάγει-διακινεί μια επιχείρηση στην αγορά.<sup>5</sup> Πριν την πραγματοποίηση μελετών, αξιολογούνται όλα τα διαθέσιμα δεδομένα για τις εν γενείς ιδιότητες των ουσιών. Αν αυτές δεν επαρκούν για την ικανοποίηση των απαιτήσεων του REACH, τότε προχωράμε στην δημιουργία πρόσθετων δοκιμών. Πληροφορίες για τις ιδιότητες αυτές των ουσιών μπορούν να προκύψουν και με άλλα μέσα εκτός από δοκιμές. Για παράδειγμα για την ανθρώπινη τοξικότητα οι πληροφορίες μπορούν να προκύψουν από in vitro μεθόδους και όχι από δοκιμές σε

<sup>4</sup>ΚΑΤΑΝΟΗΣΗΤΟΥREACH. <https://echa.europa.eu/el/regulations/reach/understanding-reach>

<sup>5</sup>ΠΩΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΕΙ Ο ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ

REACH <https://echa.europa.eu/el/regulations/reach/understanding-reach>

σπονδυλωτά ζώα.<sup>6</sup> Τα δεδομένα που υπάρχουν ή θα προκύψουν μετά τις μελέτες θα πρέπει να είναι επαρκή τόσο για την ταξινόμηση και επισήμανση, όσο και για την αξιολόγηση της χημικής ασφάλειας της ουσίας.

Οι καταχωρίζοντες συνεπώς πρέπει να εκπονούν έναν φάκελο καταχώρισης, ο οποίος να διαθέτει όλες τις απαραίτητες πληροφορίες για την αξιολόγηση της χημικής ασφάλειας της ουσίας. Επιπλέον θα πρέπει να προσδιορίζει τις απαιτήσεις πληροφοριών του σύμφωνα με την ποσοτική κατηγορία στην οποία παρασκευάζει ή εισάγει την ουσία, βάσει των παραρτημάτων VII έως X του κανονισμού REACH.

Παρακάτω παρατίθεται ο κατάλογος των τυπικών απαιτήσεων πληροφοριών<sup>7</sup>:

- Πληροφορίες που απαιτούνται για τη συνήθη καταχώριση 1-10 τόνων ετησίως (παράρτημα VII του κανονισμού REACH)

| Παράμετροι μη σπονδυλωτών ζώων  | Παράμετροι σπονδυλωτών ζώων   |
|---|-------------------------------|
| Περιγραφή της κατάστασης της ουσίας σε κανονικές συνθήκες (20°C και 101,3kPa) | Οξεία τοξικότητα από στόματος |
| Σημείο τήξης/πήξης  |                               |
| Σημείο βρασμού  |                               |
| Σχετική πυκνότητα   |                               |
| Πίεση ατμών   |                               |
| Επιφανειακή τάση  |                               |
| Υδατοδιαλυτότητα  |                               |
| Συντελεστής κατανομής   |                               |
| Σημείο ανάφλεξης/Αναφλεξιμότητα   |                               |
| Εκρηκτικές ιδιότητες  |                               |
| Θερμοκρασία αυτοανάφλεξης   |                               |
| Οξειδωτικές ιδιότητες   |                               |
| Κοκκομετρία   |                               |
| In vitro ερεθισμός/διάβρωση του δέρματος                                      |                               |
| In vitro ερεθισμός των ματιών   |                               |
| Ευαισθητοποίηση του δέρματος  |                               |
| Μετάλλαξη γονιδίων σε βακτήρια in vitro                                       |                               |
| Βραχυχρόνια τοξικότητα στα ασπόνδυλα  |                               |
| Μελέτη αναστολής της ανάπτυξης σε υδρόβια φυτά                                |                               |
| Άμεση βιοαποδομησιμότητα  |                               |

<sup>6</sup> Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.2: Framework for generation of information on intrinsic properties. In this guidance these are described as category (grouping) and analogue (read-across) approaches respectively

<sup>7</sup> <https://echa.europa.eu/el/regulations/reach/registration/information-requirements>

- Πληροφορίες που απαιτούνται για τη συνήθη καταχώριση 10-100 τόνων ετησίως (Παράρτημα VIII του κανονισμού REACH)  
Σημείωση: οι πληροφορίες αυτές απαιτούνται επιπλέον των πληροφοριών που αναφέρονται στο παράρτημα VII

| Παράμετροι μη σπονδυλωτών ζώων  | Παράμετροι σπονδυλωτών ζώων  |
|---|--|
| Μελέτη μεταλλαξιγένεσης σε κύτταρα θηλαστικών in vitro ή μελέτη μικροπυρήνων in vitro | Ερεθισμός του δέρματος* in vivo  |
| Μετάλλαξη γονιδίων in vitro σε κύτταρα θηλαστικών                                     | Ερεθισμός των οφθαλμών* in vivo  |
| Δοκιμή αναστολής της αναπνοής σε ενεργοποιημένη ύλη                                   | Πρόταση δοκιμών για in vivo γονιδιατοξικότητα (σε περίπτωση που μία από τις δοκιμές in vitro είναι θετική)                                     |
| Αποδόμηση   | Οξεία τοξικότητα δια της εισπνοής  |
| Υδρόλυση  | Βραχυχρόνια τοξικότητα επαναλαμβανόμενης δόσης (28 ημερών)   |
| Έλεγχος προσρόφησης/εκρόφησης   | Έλεγχος τοξικότητας στην αναπαραγωγή/ανάπτυξη  |
|   | Βραχυχρόνια τοξικότητα στα ψάρια ή πρόταση δοκιμών μακροχρόνιας τοξικότητας στα ψάρια (εάν η ουσία παρουσιάζει χαμηλό βαθμό υδατοδιαλυτότητας) |

\*Η μελέτη in vivo μπορεί να διεξαχθεί μόνο στην περίπτωση που η ουσία δεν μπορεί να ταξινομηθεί βάσει των αποτελεσμάτων της μελέτης in vitro.



- Πληροφορίες που απαιτούνται για τη συνήθη καταχώριση 100-1000 τόνων ετησίως  
(Παράρτημα IX του κανονισμού REACH)  
Σημείωση: οι πληροφορίες αυτές απαιτούνται επιπλέον των πληροφοριών που αναφέρονται στα παραρτήματα VII και VIII

| Παράμετροι μη σπονδυλωτών ζώων                              | Παράμετροι σπονδυλωτών ζώων                                 |
|---|---|
| Σταθερότητα σε οργανικούς διαλύτες                          | Υποχρόνια τοξικότητα (90 ημερών)                            |
| Σταθερά διαστάσεως  | Τοξικότητα στην προγεννητική ανάπτυξη σε ένα είδος          |
| Ιξώδες  | Εκτεταμένη μελέτη τοξικότητας στην αναπαραγωγή σε μία γενεά |
| Μακροχρόνια τοξικότητα στο υδάτινο περιβάλλον για ασπόνδυλα | Μακροχρόνια τοξικότητα στο υδάτινο περιβάλλον στα ψάρια     |
| Αποδόμηση   | Βιοσυσσώρευση σε υδρόβια είδη                               |

- Πληροφορίες που απαιτούνται για τη συνήθη καταχώριση 1000 τόνων και άνω ετησίως

| Παράμετροι μη σπονδυλωτών ζώων                 | Παράμετροι σπονδυλωτών ζώων  |
|--|--|
| Περαιτέρω δοκιμές αποδόμησης                   | Μακροχρόνια τοξικότητα επαναλαμβανόμενης δόσης ( $\geq 12$ μηνών), εφόσον κρίνεται σκόπιμη |
| Μακροχρόνια τοξικότητα σε οργανισμούς ιζημάτων | Τοξικότητα στην ανάπτυξη σε δεύτερο είδος  |
|  | Εκτεταμένη μελέτη τοξικότητας στην αναπαραγωγή σε μία γενεά                                |
|  | Καρκινογένεση, εφόσον κρίνεται σκόπιμη   |

(Παράρτημα X του κανονισμού REACH)

Σημείωση: οι πληροφορίες αυτές απαιτούνται επιπλέον των πληροφοριών που αναφέρονται στα παραρτήματα VII, VIII και IX

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 3<sup>ο</sup>

### *ToxRTool -Toxicological data Reliability Assessment Tool*

#### 3.1 Γενικά

Η αξιολόγηση της ποιότητας και της αξιοπιστίας των υπαρχόντων πειραματικών δεδομένων ήταν μία από τις σημαντικότερες προκλήσεις που είχαν να αντιμετωπίσουν οι επιστήμονες, ειδικά όταν τα υποκείμενα δεδομένα δεν ήταν διαθέσιμα, όπως συνέβαινε σε αρκετές περιπτώσεις. Ακόμα όμως και όταν τα τοξικολογικά δεδομένα ήταν διαθέσιμα, η αξιολόγηση αυτών, ήταν καίριας σημασίας για την ορθή λήψη ρυθμιστικών αποφάσεων.

Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι η χρήση υφιστάμενων δεδομένων για τις τοξικολογικές ιδιότητες των χημικών ουσιών είναι απαραίτητη σε διάφορα κανονιστικά πλαίσια για λόγους διαβίωσης των ζώων (αποφυγή επιπλέον ζώων σε πειράματα), καθώς και για οικονομικούς λόγους. Στο πλαίσιο αυτό, το ζήτημα που απασχολούσε ιδιαίτερα τους επιστήμονες και απαιτούσε λύση ήταν οι διαφορές που προέκυπταν από την ποιοτική αξιολόγηση των δεδομένων, γεγονός που θα μπορούσε να οδηγήσει σε εξουδετέρωση των προσπαθειών εναρμόνισης στην κατάταξη των ουσιών (κατά GHS=Globally Harmonized System).

Πρόβαλε, σαφής λοιπόν η ανάγκη για αύξηση της διαφάνειας και της εναρμόνισης των προσεγγίσεων αξιολόγησης της αξιοπιστίας. Την ανάγκη αυτή προσπάθησαν να καλύψουν οι κατηγορίες Klimisch, οι οποίες αν και καλά θεωρημένες, στερούνταν λεπτομερών κριτηρίων για την εκχώρηση δεδομένων ποιότητας. Το 1997, οι Klimisch δημοσίευσαν ένα σύστημα κατηγοριοποίησης με στόχο την ανάθεση τοξικολογικών δεδομένων σε μία από τις τέσσερις κατηγορίες αξιοπιστίας. Οι ορισμοί λοιπόν που εισήγαγαν ήταν:

- **Αξιοπιστία:** αξιολόγηση της εγγενούς ποιότητας μιας έκθεσης δοκιμής ή δημοσίευσης, που σχετίζεται με την τυποποιημένη μεθοδολογία και τον τρόπο που περιγράφονται οι πειραματικές διαδικασίες και τα αποτελέσματα για την απόδειξη της σαφήνειας και της «καθαρότητας» των ευρημάτων.
- **Συνάφεια:** καλύπτει τον βαθμό στον οποίο υπάρχουν δεδομένα ή και δοκιμές κατάλληλες για τον προσδιορισμό συγκεκριμένου κινδύνου ή για τον χαρακτηρισμό κινδύνου
- **Επάρκεια:** καθορισμός της χρησιμότητας των δεδομένων για σκοπούς αξιολόγησης κινδύνων. Όταν υπάρχουν περισσότερα από ένα σετ δεδομένων για το καθένα αποτέλεσμα, το μεγαλύτερο βάρος συνδέεται με το πιο αξιόπιστο και σχετικό.

Η κατηγοριοποίηση κατά Klimisch έχει σαφή κριτήρια που επιτρέπουν την εξαγωγή συμπερασμάτων, όμως παρουσιάζει σημαντικές ελλείψεις στις κατηγορίες αξιοπιστίας. Στο σύστημα Klimisch:

- i.** ο κωδικός κατηγορίας 1, υποδηλώνει ότι μία μελέτη είναι αξιόπιστη χωρίς περιορισμούς και ότι τηρεί τις διεθνώς ενδεδειγμένες οδηγίες δοκιμών (κατά CLP).
- ii.** Ο κωδικός κατηγορίας 2, υποδηλώνει ότι η μελέτη είναι αξιόπιστη αλλά με περιορισμούς, και συνήθως δεν διενεργήθηκε σύμφωνα με τους κανόνες CLP, ωστόσο όμως είναι τεκμηριωμένη και επιστημονικά αποδεκτή.
- iii.** Με τον κωδικό 3, υποδηλώνουμε ότι η μελέτη δεν είναι αξιόπιστη, λόγω σημαντικών επιστημονικών ελαττωμάτων ή ελλείψεων στην τεκμηρίωση, και
- iv.** τέλος με τον κωδικό 4, υποδηλώνεται ότι η μελέτη δεν μπορεί να εκχωρηθεί, καθώς δεν περιέχει τα απαραίτητα πρωτογενή δεδομένα.

Για να γίνει η τοποθέτηση των μελετών σε κριτήρια κατηγορίας, η μέθοδος Klimisch περιγράφει 9 κριτήρια για *in vivo* μελέτες και 6 κριτήρια για *in vitro* μελέτες. Αξίζει να σημειωθεί ότι μόνο οι μελέτες που διεξήχθησαν σύμφωνα με τις κατευθυντήριες γραμμές και κατά GLP κατατάσσονται στην κατηγορία «αξιόπιστα χωρίς περιορισμούς». Υπάρχουν ωστόσο και μελέτες που διεξήχθησαν πριν την δημοσίευση των προτύπων GLP, ή ακόμα μελέτες που δεν είναι κατά GLP αλλά πληρούν τα υψηλά επιστημονικά κριτήρια. Οι μελέτες αυτές μπορούν εύκολά να υποβαθμιστούν και να παραλειφθούν.

Για να μπορέσει να αντιμετωπιστεί αυτό το πρόβλημα και η επιλογή των τοξικολογικών μελετών να είναι διαφανέστερη, ήταν αναγκαία η ύπαρξη ενός αξιόπιστου και αντικειμενικού εργαλείου για την αξιολόγηση τόσο της ποιότητας της μελέτης, όσο και της τεκμηρίωσης της διαδικασίας μέσω της βελτίωσης των μεθόδων εκτίμησης κινδύνου. Το εργαλείο αυτό ήταν το Εργαλείο Αξιολόγησης Αξιοπιστίας Τοξικολογικών δεδομένων, ToxRTool, δημοσίως πλέον διαθέσιμο για δοκιμή και χρήση, που βασίζεται σε υπολογιστικά φύλλα του Microsoft Office Excel και επειδή προσδιορίζει βιβλιογραφικές τοξικολογικές μελέτες με πρωτογενή δεδομένα, η κατηγορία 4 κατά Klimisch αποκλείστηκε.

### 3.2 Δομή ΤοxRTool

Μετά από αρκετές τροποποιήσεις, η τελική έκδοση του εργαλείου αποτελείται από δύο πρότυπα με τη μορφή υπολογιστικών φύλλων Excel, με μια σειρά από ερωτήσεις σχετικά με μία ποικιλία στοιχείων της μελέτης. Το ένα φύλλο παρέχεται για *in vitro* μελέτες και αποτελείται από 18 κριτήρια, ενώ το δεύτερο παρέχεται για *in vivo* μελέτες και αποτελείται από 21 κριτήρια. Το ΤοxRTool δεν παρέχεται για επιδημιολογικές μελέτες και συνεπώς δεν προορίζεται η αξιολόγηση τέτοιων μελετών<sup>8</sup>.

Παρακάτω παρατίθενται ο πίνακας με τις κατηγορίες αξιοπιστίας, όπως αυτές ορίστηκαν κατά Klimisch (1997).

| ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ                       | ΟΡΙΣΜΟΣ   |
|----------------------------------|---|
| 1. Αξιόπιστη χωρίς περιορισμούς. | Μελέτες ή στοιχεία από βιβλιογραφία ή εκθέσεις που δημιουργήθηκαν ή πραγματοποιούνται σύμφωνα με έγκυρη και/ή διεθνή αποδεκτές κατευθυντήριες γραμμές δοκιμών (σύμφωνα με GLP) ή στην οποία δοκιμή οι παράμετροι που τεκμηριώνονται βασίζονται σε ειδικές κατευθυντήριες γραμμές (κατά GLP) ή στο οποίο όλοι οι παράμετροι που περιγράφονται είναι στενά συνδεδεμένοι με μία κατευθυντήρια γραμμή μεθόδου.                  |
| 2. Αξιόπιστη με περιορισμούς     | Μελέτες ή στοιχεία από τη βιβλιογραφία (οι οποίες κυρίως δεν εκτελούνται κατά GLP) στις οποίες ο παράμετροι δοκιμής τεκμηριώνονται ότι δεν συμμορφώνονται πλήρως με τις κατευθυντήριες γραμμές, αλλά τα δεδομένα επαρκούν για να γίνουν αποδεκτά, ή στις οποίες έρευνες περιγράφονται ότι δεν μπορούν να υπαχθούν κάτω από μία κατευθυντήρια γραμμή δοκιμών, αλλά παρόλα αυτά είναι τεκμηριωμένα και επιστημονικά αποδεκτά. |
| 3. Μη αξιόπιστη                  | Μελέτες ή στοιχεία από βιβλιογραφίες/αναφορές στις οποίες υπήρξαν παρεμβολές μεταξύ του συστήματος μέτρησης και της υπό   |

<sup>8</sup>Evaluation of the ToxRTool's ability to rate the reliability of toxicological data for human health hazard assessments. June 2015, Pages 94-101

|                      |   |
|----------------------|---|
|                      | δοκιμή ουσίας ή στους οποίους οργανισμούς/δοκιμές τα συστήματα που χρησιμοποιήθηκαν δεν είναι σχετικά σε σχέση με την έκθεση (π.χ. μη φυσιολογική οδός εφαρμογής) ή που πραγματοποιήθηκαν/δημιουργήθηκαν σύμφωνα με μία μέθοδο που δεν είναι αποδεκτή, η τεκμηρίωση της οποίας δεν επαρκεί για αξιολόγηση |
| 4. Μη καταχωρισθείσα | Μελέτες ή στοιχεία από την βιβλιογραφία που δεν δίνουν επαρκείς πειραματικές λεπτομέρειες και τα οποία παρατίθενται μόνο σε σύντομες περιλήψεις ή δευτερογενή βιβλιογραφία (κριτικές, βιβλία, κ.α.)   |



### 3.3 Λειτουργία του εργαλείου ToxTool

Ο πρωταρχικός στόχος του εργαλείου είναι να παρέχει μια διαφανή μεθοδολογία για την καταχώριση δεδομένων από τοξικολογική μελέτη στις κατηγορίες αξιολόγησης κατά Klimisch 1,2 ή 3, με βάση συγκεκριμένα κριτήρια. Το εργαλείο αυτό έχει εφαρμογή μόνο σε πρωτότυπα δεδομένα, ενώ για την κατηγορία 4 Klimisch, που αφορά δευτερεύουσες πηγές και εγχειρίδια, το εργαλείο αυτό δεν βρίσκει εφαρμογή.

Αρχικά τα κριτήρια αναπτύχθηκαν συντάσσοντας μία λίστα παραμέτρων με πιθανό αντίκτυπο στην ποιότητα των δεδομένων της μελέτης. Οι παράμετροι ανακτήθηκαν από την αξιολόγηση των απαιτήσεων των κατευθυντήριων γραμμών, καθώς και από δημοσιεύσεις και εκθέσεις που σχετίζονται με αυτό το θέμα. Από την λίστα αυτή, προέκυψε η ανάγκη οργάνωσης του εργαλείου σε δύο μέρη, παράλληλα και με την ίδια δομή, δηλαδή δεδομένα *in vitro* και δεδομένα *in vivo*. Οι παράμετροι αναδιατυπώθηκαν υπό τη μορφή ερωτήσεων (κριτήρια) και χωρίστηκαν σε πέντε ομάδες ανάλογα με το αν σχετίζονται με:

1. Προσδιορισμό ελεγχόμενης ουσίας
2. Χαρακτηρισμό ελεγχόμενου οργανισμού (συστήματος)
3. Περιγραφή σχεδιασμού μελέτης
4. Τεκμηρίωση αποτελεσμάτων μελέτης
5. Αξιοπιστία σχεδιασμού και αποτελεσμάτων της μελέτης

Σύμφωνα με τον EPA (Environmental Protection Agency of US) και τον REACH υπάρχει ένα ελάχιστο σύνολο πληροφορούν σε κάθε ομάδα, ώστε να θεωρούνται αξιόπιστα τα δεδομένα. Τα κριτήρια που καλύπτουν τέτοιες πληροφορίες επισημαίνονται ως «κόκκινα κριτήρια». Η μη συμμόρφωση με τουλάχιστον ένα «κόκκινο κριτήριο», μας οδηγεί αμέσως στην κατηγορία 3 κατά Klimisch (ανεξάρτητα από το σύνολο της βαθμολογίας για όλα τα κριτήρια που επιτεύχθηκαν).

Αντίθετα, αν πληρούνται όλα τα «κόκκινα κριτήρια», οι ατομικές βαθμολογίες συναθροίζονται και οδηγούν τα δεδομένα στην κατάταξη κατηγορίας 1 κατά Klimisch (τουλάχιστον το 80% της μέγιστης βαθμολογίας) και στην κατηγορία 2 (τουλάχιστον το 60% της μέγιστης βαθμολογίας). Οι χαμηλότερες συνολικές βαθμολογίες καταλήγουν στην κατηγορία 3, ενώ οι τιμές αποκοπής για τις κατηγορίες 1 και 2 ορίστηκαν αυθαίρετα για να παρέχουν επαρκή εύρη για όλες τις κατηγορίες.

Το πρωταρχικό αποτέλεσμα του εργαλείου είναι η κατάταξη των δεδομένων στις κατηγορίες 1, 2, 3 κατά Klimisch, ταυτόχρονα όμως παρέχει τη δυνατότητα να εκχωρηθεί και μια κατηγορία Klimisch κατά την προσωπική μας κρίση. Στην περίπτωση διαφοροποίησης των αποτελεσμάτων, ο αξιολογητής καλείται να τεκμηριώσει τους λόγους αυτής της επιλογής. Αξίζει να σημειωθεί ότι εκτός από τα κριτήρια αξιολόγησης της αξιοπιστίας δεδομένων, το εργαλείο αυτό παρέχει την δυνατότητα καταγραφής παρατηρήσεων, τα οποία δεν λαμβάνονται υπόψιν στην

τελική βαθμολογία, αλλά μπορεί να αποδειχθούν σημαντικά για μελλοντικούς ρυθμιστικούς ή άλλους σκοπούς.<sup>9</sup>

---

<sup>9</sup>“ToxRTool”, a new tool to assess the reliability of toxicological data. Klaus Schneider, Markus Schwarz, Iris Burkholder, Annette Kopp-Schneider, Lutz Edler, Agnieszka Kinsner-Ovaskainen, Thomas Hartung, Sebastian Hoffmann. June 2009, 138-144

## **ΚΕΦΑΛΑΙΟ 4<sup>ο</sup>**

### **4.1 ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΥΠΑΡΧΟΝΤΩΝ ΠΕΙΡΑΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΔΟΜΕΝΩΝ**

Σημαντικό κεφάλαιο στην διαδικασία εφαρμογής του κανονισμού REACH διαδραματίζει η αξιολόγηση των διαθέσιμων πληροφοριών που υπάρχουν προκειμένου να γίνει κατανοητό εάν πληρούνται όλες οι προϋποθέσεις που θέτει ο κανονισμός REACH για την εκάστοτε ουσία που μελετάμε. Οι πληροφορίες αυτές θα πρέπει να ελέγχονται ως προς την πληρότητά τους, αλλά και ως προς την ποιότητά (συνάφεια, αξιοπιστία και επάρκεια) τους για τους σκοπούς του REACH.

#### **1. ΣΥΝΑΦΕΙΑ:**

Συνάφεια είναι ο βαθμός στον οποίο τα δεδομένα και οι δοκιμές είναι κατάλληλες για τον προσδιορισμό ενός συγκεκριμένου κινδύνου και τον χαρακτηρισμό κινδύνου.

#### **2. ΑΞΙΟΠΙΣΤΙΑ:**

Αξιοπιστία είναι η εγγενής ποιότητα μίας έκθεσης δοκιμής ή δημοσίευσης που σχετίζεται με την κατά προτίμηση «τυποποιημένη» μεθοδολογία και τον τρόπο με τον οποίο περιγράφεται η πειραματική διαδικασία και τα αποτελέσματα αυτής, για να προσδώσουν σαφήνεια και αληθοφάνεια στα ευρήματα.

Είναι πολύ σημαντικό σε μια μελέτη να γίνεται διάκριση των αξιόπιστων μεθόδων και πληροφοριών.

Ένα σύστημα βαθμολόγησης για την αξιοπιστία των δεδομένων είναι αυτό της κατηγοριοποίησης Klimisch. Το σύστημα αυτό αποτελείται από τέσσερις κατηγορίες αξιοπιστίας:

- Αξιόπιστο χωρίς περιορισμούς
- Αξιόπιστο με περιορισμούς
- Μη αξιόπιστο
- Δεν μπορεί να εκχωρηθεί

Με το σύστημα αυτό επιτρέπεται η κατάταξη και οργάνωση των πληροφοριών για περαιτέρω επανεξέταση.

#### **3. ΕΠΑΡΚΕΙΑ:**

Η επάρκεια είναι η χρησιμότητα των δεδομένων για σκοπούς εκτίμησης επικινδυνότητας.

Τα δεδομένα που ελέγχονται είναι:

- δεδομένα δοκιμών

- δεδομένα που δεν προέρχονται από δοκιμές και
- ανθρώπινα δεδομένα.

Στην συνέχεια παρουσιάζονται αναλυτικά όλα τα δεδομένα τα οποία πρέπει να υπόκεινται σε έλεγχο, σύμφωνα πάντα με τους ισχύοντες κανονισμούς.

## 4.2. Έλεγχος Δεδομένων Δοκιμών

Ξεκινώντας λοιπόν από τον έλεγχο των δεδομένων δοκιμών το πρώτο πράγμα που ελέγχεται είναι δεδομένα δοκιμών από τυποποιημένες μεθόδους προερχόμενες από την Ευρωπαϊκή Ένωση ή άλλα διεθνή κράτη. Σύμφωνα με τον κανονισμό REACH, άρθρο 13, παράγραφος 3, οι δοκιμές που απαιτούνται για την δημιουργία πληροφοριών σχετικά με τις εγγενείς ιδιότητες των ουσιών, πρέπει να πραγματοποιούνται σύμφωνα με τις μεθόδους που αναγνωρίζονται από τον κανονισμό.

Τοξικολογικές και οικοτοξικολογικές μελέτες πραγματοποιούνται σύμφωνα με τις αρχές ορθής εργαστηριακής πρακτικής (GLP). Δεδομένα που δημιουργούνται με οποιονδήποτε μέθοδο επικυρωμένη επιστημονικά, θεωρούνται από μόνα τους επαρκή για ρυθμιστική χρήση. Ο έλεγχος συνεχίζεται σε δεδομένα δοκιμής που προέρχονται από άλλες μεθόδους. Τέτοια δεδομένα μπορεί να θεωρηθούν κατάλληλα για χρήση σύμφωνα με τον κανονισμό REACH, υπό τις προϋποθέσεις που αυτός επιβάλλει (σύμφωνα με το παράρτημα XI). Επιπλέον μία ακόμα υποκατηγορία που ελέγχεται είναι δεδομένα *in vitro* στα πλαίσια του REACH. Αρχικά πρέπει να γίνει διάκριση μεταξύ της καταλληλότητας της μεθοδολογίας και της επάρκειας των δεδομένων που προκύπτουν από την εκάστοτε μέθοδο. Επί του παρόντος δύο κατηγορίες *In vitro* δοκιμών αναφέρονται ως κατάλληλες στον REACH:

1. Επικυρωμένες μέθοδοι π.χ. δοκιμές *In vitro* για διάβρωση του δέρματος και *in vitro* γονοτοξικότητα, όπως το Ames test.
2. Δοκιμές *In vitro* που πληρούν διεθνώς συμφωνημένα κριτήρια προεπικυρωσης από π.χ. ECVAM.

Τέλος, έλεγχος πρέπει να πραγματοποιηθεί για την επάρκεια πληροφοριών που προέρχονται από *in vitro* δοκιμές. Τέτοιες πληροφορίες μπορούν να χρησιμοποιηθούν με τους παρακάτω τρόπους:

- I. Επιστημονικά επικυρωμένες δοκιμές *In vitro* που γίνονται αποδεκτές για ρυθμιστικούς σκοπούς μπορούν να αντικαταστήσουν εν μέρη ή πλήρως τις δοκιμές σε ζώα, ανάλογα με τον σκοπό της μεθόδου δοκιμής που επικαιροποιήθηκε.
- II. Πληροφορίες που προέρχονται από κατάλληλες μεθόδους δοκιμής μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την προσαρμογή του προτύπου καθεστώτος δοκιμών.

Επόμενη κατηγορία προς έλεγχο είναι αυτή των δεδομένων που δεν προέρχονται από δοκιμές. Τέτοια δεδομένα δημιουργούνται από μοντέλα (Q)SAR αλλά και από εξειδικευμένα συστήματα και δεδομένα τα οποία προέρχονται από ομαδοποίηση (προσεγγίσεις αναλογικής και χημικής κατηγορίας). Τα δεδομένα (Q)SAR μπορεί να υποστηρίζουν την παραίτηση από την δοκιμή ή μπορεί να χρησιμεύουν ως κίνητρο για την διενέργεια περαιτέρω δοκιμών. Σύμφωνα με το παράρτημα XI του REACH, (Q)SAR μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντί για δοκιμή όταν πληρούνται οι ακόλουθες προϋποθέσεις:

- ✓ Τα αποτελέσματα προέρχονται από μοντέλο (Q)SAR, του οποίου η επιστημονική εγκυρότητα έχει τεκμηριωθεί.
- ✓ Η ουσία εμπίπτει στον τομέα εφαρμογής του μοντέλου (Q)SAR.
- ✓ Τα αποτελέσματα είναι επαρκή για σκοπούς ταξινόμησης και επισήμανσης ή/και αξιολόγησης κινδύνου.

✓ Παρέχεται επαρκής και αξιόπιστη τεκμηρίωση της εφαρμοσμένης μεθόδου. Εάν κάποια από αυτές τις προϋποθέσεις δεν πληρούνται, τότε τα αποτελέσματα (Q)SAR δεν μπορούν να χρησιμοποιηθούν αντί για δοκιμή, αλλά μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως μέρος του βάρους των αποδείξεων. Στην κατηγορία αυτή, μία ακόμα ομάδα δεδομένων που πρέπει να ελεγχθεί, είναι αυτά που προέρχονται από προσεγγίσεις ομαδοποίησης και read-across μεθόδους. Οι προσεγγίσεις read-across και ομαδοποίησης, μπορούν να χρησιμοποιηθούν για την εκπλήρωση των απαιτήσεων του κανονισμού REACH. Ένας καταχωρίζων που χρησιμοποιεί τέτοιες μεθόδους, υποχρεούται να παρέχει επαρκή επιστημονική αιτιολόγηση και να αποδείξει ότι η προσέγγιση αυτή είναι επαρκής για κανονιστικούς σκοπούς (ταξινόμηση και επισήμανση ή/και εκτίμηση κινδύνου). Τέλος, η κατηγορία που ελέγχεται αφορά αυτή των ανθρώπινων δεδομένων. Τέσσερις κατηγορίες ανθρώπινων δεδομένων μπορούν να υποβληθούν και να χρησιμοποιηθούν για διαφορετικούς σκοπούς:

- Οι αναλυτικές επιδημιολογικές μελέτες σε εκτεθειμένους πληθυσμούς (case-control, cohort & cross-sectional studies) είναι χρήσιμες για τον προσδιορισμό της σχέσης μεταξύ της ανθρώπινης έκθεσης και των επιπτώσεων και μπορεί να παρέχει δεδομένα για την αξιολόγηση κινδύνου.
- Περιγραφικές ή συσχετιστικές επιδημιολογικές μελέτες είναι χρήσιμες για τον εντοπισμό περιοχών ενδιαφέροντος για περαιτέρω έρευνα, αλλά δεν είναι πολύ χρήσιμα για την αξιολόγηση κινδύνου, δεδομένου ότι μπορούν να προσδιορίσουν ‘μοτίβα’ ή τάσεις, αλλά δεν μπορούν να προσδιορίσουν με ακρίβεια τον αιτιολογικό παράγοντα ή τον βαθμό της ανθρώπινης έκθεσης.
- Case reports μπορούν να αναδείξουν επιδράσεις, οι οποίες δεν μπορούν να γίνουν εύκολα αντιληπτές σε πειραματόζωα. Στην περίπτωση αυτή απαιτείται διεξοδική αξιολόγηση της αξιοπιστίας και της συνάφειας των case reports, καθώς σε πολλές περιπτώσεις υπάρχουν ελλείψεις κρίσιμων δεδομένων, όπως η καθαρότητα της ουσίας, η ανθρώπινη έκθεση και οι επιπτώσεις.
- Στην τελευταία κατηγορία έχουμε τις ελεγχόμενες μελέτες σε ανθρώπους-εθελοντές, οι οποίες σπάνια γίνονται αποδεκτές. Η δοκιμή σε ανθρώπους αποθαρρύνεται, στην περίπτωση όμως που υπάρχουν διαθέσιμα δεδομένα καλής ποιότητας, μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε καλά αιτιολογημένες περιπτώσεις.

Σύμφωνα λοιπόν με όλα τα παραπάνω στοιχεία, υπάρχει μία ποικιλία δεδομένων που πρέπει να ελεγχθούν διεξοδικά, προκειμένου να χρησιμοποιηθούν σωστά αλλά και σύμφωνα με τους ισχύοντες νόμους. Η αξιολόγηση της συνάφειας, της αξιοπιστίας και της επάρκειας των πληροφοριών αποτελούν τους πυλώνες για την διεξαγωγή συμπεράσματος σχετικά με την επικινδυνότητα μίας ουσίας.<sup>10</sup>

<sup>10</sup> Guidance on information requirements and chemical safety assessment Part B: Hazard assessment. B.4 EVALUATION OF AVAILABLE INFORMATION p. 7-10

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 5<sup>ο</sup>

### ΦΑΚΕΛΟΣ ΚΑΤΑΧΩΡΗΣΗΣ

Ο φάκελος καταχώρησης ο οποίος υποβάλλεται στον ECHA, είναι ένας φάκελος με τον οποίο αποδεικνύεται ότι η χρήση μίας ουσίας γίνεται με ασφάλεια σε όλο το μήκος της αλυσίδας εφοδιασμού, με γνώμονα την προστασία της ανθρώπινης υγείας και του περιβάλλοντος.

Για την καταχώρηση μίας ουσίας ή όχι, υπάρχουν τρεις καθοριστικοί παράγοντες, που θα πρέπει πρώτα να ελεγχθούν:

- Ο ρόλος μας στην αλυσίδα εφοδιασμού: Είναι δική μας υποχρέωση η καταχώριση ή αυτή υποχρεούται να γίνει από άλλον φορέα στην αλυσίδα εφοδιασμού;

Υποχρέωση καταχώρισης έχει οποιαδήποτε επιχείρηση παράγει ή εισάγει την ουσία σε ποσότητα πάνω του ενός τόνους ετησίως. Πιο συγκεκριμένα υποχρέωση καταχώρισης έχουν:

- I. Παρασκευαστές ή εισαγωγείς της ΕΕ ουσιών υπό καθαρή μορφή ή σε μείγμα
- II. Παραγωγοί ή εισαγωγείς στην ΕΕ αντικειμένων που πληρούν τα κριτήρια που αναλύονται στην Καθοδήγηση σχετικά με τις απαιτήσεις για ουσίες σε αντικείμενα
- III. «Αποκλειστικοί αντιπρόσωποι» που είναι εγκατεστημένοι στην ΕΕ και έχουν οριστεί από παρασκευαστή, τυποποιητή ή παραγωγό αντικειμένων εγκατεστημένο εκτός της ΕΕ για να εκπληρώνουν τις υποχρεώσεις καταχώρισης που βαρύνουν εισαγωγείς

Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι, οι παρασκευαστές ή εισαγωγείς της ίδιας ουσίας πρέπει να υποβάλλουν από κοινού καταχώριση.

- Πεδίο εφαρμογής και εξαιρέσεις: η ουσία πρέπει να καταχωριστεί ή απαλλάσσεται από την υποχρέωση καταχώρισης;

Μία ουσία που είναι ήδη καταχωρημένη δεν απαιτείται να καταχωρηθεί ξανά. Επίσης μία ουσία που παράγεται ή εισάγεται σε ποσότητα κάτω του ενός τόνου ετησίως απαλλάσσεται από την υποχρέωση καταχώρισης. Τέλος ουσίες που χρησιμοποιούνται σε ποσότητες πάνω από έναν τόνο ετησίως για σκοπούς έρευνας και ανάπτυξης προϊόντων και διεργασιών, απαλλάσσονται επίσης από την υποχρέωση καταχώρισης για διάστημα πέντε ετών.

- Ποσότητα: υπερβαίνει την ποσότητα του ενός τόνου ετησίως;

Εάν όχι, τότε δεν υποχρεούται να καταχωρισθεί.

Εάν κάτι από τα παραπάνω δεν ισχύει τότε η ουσία δεν υποχρεούται να καταχωρισθεί σύμφωνα με τον κανονισμό REACH.

Για κάθε ξεχωριστή ουσία, οι απαιτήσεις πληροφοριών διαφέρουν ανάλογα με την ποσότητα της ουσίας, την χρήση, την έκθεση καθώς και της ιδιότητες αυτής.

Οι πληροφορίες οι οποίες απαιτούνται να εμπεριέχονται στον φάκελο καταχώρισης για ουσίες που έχουν την υποχρέωση αυτή, διαχωρίζονται σε αυτές που πρέπει να

εμπεριέχονται στον κοινό φάκελο καταχώρισης και σε αυτές που πρέπει να περιλαμβάνονται στον ατομικό φάκελο. Στο κοινό τμήμα του φακέλου πρέπει να περιλαμβάνονται τρία βασικά είδη πληροφοριών:

1. Φυσικά και χημικά χαρακτηριστικά της ουσίας
2. Ιδιότητες της ουσίας όσον αφορά το περιβάλλον
3. Ιδιότητες της ουσίας όσον αφορά την υγεία του ανθρώπου

Στο ατομικό τμήμα του φακέλου θα πρέπει επιπλέον να περιλαμβάνονται στοιχεία σχετικά με την επιχείρηση η οποία διαχειρίζεται την ουσία, δηλαδή στοιχεία όπως:

1. Προσδιορισμός της ουσίας (συστατικά, προσμίξεις, πρόσθετα)
2. Χρήση και συνθήκες χρήσης της ουσίας κατά την διάρκεια όλου του κύκλου ζωής της (από την παρασκευή έως την διαχείριση των αποβλήτων αυτής<sup>11</sup>).

Οι τυπικές απαιτήσεις πληροφοριών που πρέπει να περιλαμβάνονται στο φάκελο θα διαφέρουν ανάλογα με την ποσότητα της ουσίας. Επίσης μέσα στον φάκελο θα περιλαμβάνεται έκθεση χημικής ασφάλειας η οποία θα περιέχει τα εξής θέματα:

- Αξιολόγηση επικινδυνότητας.
- Προσδιορισμός των συνθηκών υπό τις οποίες τίθενται υπό έλεγχο κίνδυνοι που προκύπτουν από την παρασκευή και τις χρήσεις, δηλ. σενάρια έκθεσης.
- Τεκμηρίωση σχετικών δεδομένων, αιτιολογήσεων και συμπερασμάτων σε έκθεση χημικής ασφάλειας.
- Επικοινωνία κατά μήκος της αλυσίδας εφοδιασμού<sup>12</sup>.

Τέλος, εάν η ουσία εμπίπτει στον ορισμό για τα ενδιάμεσα προϊόντα, δηλαδή η καταχωρισμένη ουσία μετατρέπεται σε άλλη ουσία και παρασκευάζεται και χρησιμοποιείται υπό αυστηρά ελεγχόμενες συνθήκες σε εγκαταστάσεις παρασκευής χημικών προϊόντων, τότε απαιτούνται κάποιες πληροφορίες, οι οποίες είναι μειωμένες, και σίγουρα δεν απαιτούν την διενέργεια χημικής ασφάλειας<sup>13</sup>.

<sup>11</sup> <https://echa.europa.eu/el/regulations/reach/registration/publishing-information-from-dossiers>

<sup>12</sup> <https://echa.europa.eu/el/regulations/reach/registration/information-requirements>

<sup>13</sup> <https://echa.europa.eu/el/regulations/reach/registration/data-sharing/joint-submission-of-data>



## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 6<sup>ο</sup>

### ΤΑΞΕΙΣ ΚΑΙ ΚΑΤΗΓΟΡΙΕΣ ΚΙΝΔΥΝΟΥ ΤΗΣ ΑΝΘΡΩΠΙΝΗΣ ΥΓΕΙΑΣ

Ο Ευρωπαϊκός κανονισμός 1272/2008, που ονομάζεται και κανονισμός CLP, αποτελεί το ακρωνύμιο των αγγλικών λέξεων Classification (Ταξινόμηση), Labelling (Επισήμανση) και Packaging (Συσκευασία). Ο κανονισμός αυτός εναρμονίζει το ευρωπαϊκό σύστημα ταξινόμησης των χημικών ουσιών και μειγμάτων με το Παγκόσμιο εναρμονισμένο σύστημα GHS (Globally Harmonized System) ταξινόμησης των χημικών ουσιών. Ο κανονισμός αυτός περιγράφει τα κριτήρια ταξινόμησης μίας ουσίας ή μείγματος σε εννέα διαφορετικές κατηγορίες. Η ταξινόμηση μίας χημικής ουσίας σε μία κατηγορία αποδίδει το είδος και το βαθμό επικινδυνότητας για την υγεία και την ασφάλεια ενός χρήστη της ουσίας αυτής, είτε το πρόσωπο αποτελεί καταναλωτή είτε εργαζόμενο. Κάθε ουσία που έχει ταξινομηθεί σε μία κατηγορία φέρει και το αντίστοιχο εικονόγραμμα. Επίσης κάθε ουσία υποχρεούται να συνοδεύεται από:

- i. Δηλώσεις Επικινδυνότητας και
- ii. Δηλώσεις Προφύλαξης

ανάλογα με την κατηγορία στην οποία έχει ταξινομηθεί.

#### I. Δηλώσεις Επικινδυνότητας:

Περιγράφουν τον κίνδυνο και αναπαριστώνται με το γράμμα H και έναν τριψήφιο αριθμό. Είναι σημαντικό να αναφερθεί ότι εάν μια ουσία ή μείγμα ταξινομηθεί σε πολλές διαφορετικές τάξεις κινδύνου ή διαφοροποιείται εντός μίας τάξης κινδύνου, τότε όλες οι δηλώσεις επικινδυνότητας που προκύπτουν από την ταξινόμηση, θα πρέπει να αναγράφονται πάνω στην ετικέτα, εκτός ένα υπάρχει σαφής επανάληψη ή πλεονασμός αυτού.

#### II. Δηλώσεις Προφύλαξης:

Αναφέρουν τις σχετικές δηλώσεις προφύλαξης, με συμβουλές σχετικά με την αποτροπή ή την ελαχιστοποίηση των δυσμενών επιδράσεων στην ανθρώπινη υγεία και το περιβάλλον που προέρχονται από τους κινδύνους μίας ουσίας ή ενός μείγματος. Οι δηλώσεις προφύλαξης πρέπει να επιλέγονται με συνεκτίμηση των χρησιμοποιούμενων δηλώσεων επικινδυνότητας, της προβλεπόμενης ή προσδιοριζόμενης χρήσης ή χρήσεων του προϊόντος. Οι δηλώσεις προφύλαξης επίσης αναπαριστώνται με το γράμμα P και έναν τριψήφιο αριθμό.

#### **Μεταλλαξιγένεση**

Οι κίνδυνοι που προκαλούνται από μεταλλαξιγόνες ουσίες πρέπει να ελέγχονται ώστε να αποτρέπεται η πρόκληση γενετικής βλάβης/αλλοιώσεων. Οι εν λόγω αλλοιώσεις μπορούν να προκαλέσουν καρκίνο σε περίπτωση που εμφανίζονται σε σωματικά

κύτταρα ή, εάν εμφανιστούν σε γεννητικά κύτταρα, μπορούν να προκαλέσουν κληρονομική γενετική βλάβη. Για την ταξινόμηση των ουσιών και των μειγμάτων σε αυτή της τάξη κινδύνου εξετάζονται επίσης τα αποτελέσματα των δοκιμών μεταλλαξιογένεσης ή γονιδιατοξικότητας *in vitro* και σε σωματικά και γεννητικά κύτταρα θηλαστικών *in vivo*.

Έτσι λοιπόν προκύπτουν οι κάτωθι κατηγορίες κινδύνου για μεταλλαξιγόνα γεννητικών κυττάρων:

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΔΗΛΩΣΕΩΝ ΕΠΙΚΙΝΔΥΝΟΤΗΤΑΣ:




Πίνακας 3.5.1

### Κατηγορία κινδύνου για μεταλλαξιγόνα γεννητικών κυττάρων

| Κατηγορίες           | Κριτήρια   |
|----------------------|--|
| <b>ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 1:</b>  | Ουσίες που είναι γνωστό ότι προκαλούν κληρονομικές μεταλλάξεις ή που θεωρείται ότι προκαλούν κληρονομικές μεταλλάξεις στα γεννητικά κύτταρα του ανθρώπου<br>Ουσίες που είναι γνωστό ότι προκαλούν κληρονομικές μεταλλάξεις στα γεννητικά κύτταρα του ανθρώπου  |
| <b>Κατηγορία 1Α:</b> | Η ταξινόμηση στην κατηγορία 1Α βασίζεται σε θετικά στοιχεία από επιδημιολογικές μελέτες για τον άνθρωπο<br>Ουσίες που θεωρείται ότι προκαλούν κληρονομικές μεταλλάξεις στα γεννητικά κύτταρα του ανθρώπου  |
| <b>Κατηγορία 1Β:</b> | Η ταξινόμηση στην κατηγορία 1Β βασίζεται:<br>— σε θετικό αποτέλεσμα/αποτελέσματα από <i>in vitro</i> δοκιμές κληρονομικής μεταλλαξιογένεσης σε γεννητικά κύτταρα θηλαστικών ή<br>— σε θετικό αποτέλεσμα/αποτελέσματα από <i>in vitro</i> δοκιμές μεταλλαξιογένεσης σε σωματικά κύτταρα θηλαστικών, σε συνδυασμό με μερικά στοιχεία που να αποδεικνύουν ότι η ουσία είναι δυνατό να προκαλεί μεταλλάξεις των γεννητικών κυττάρων. Είναι δυνατόν να προκύψουν τα εν λόγω σχετικά αποδεικτικά στοιχεία από δοκιμές μεταλλαξιογένεσης/γονιδιατοξικότητας σε γεννητικά κύτταρα <i>in vitro</i> ή να καταδεικνύουν την πιθανότητα της ουσίας ή του μεταβολίτη/των μεταβολιτών της να επιδρούν στο γενετικό υλικό των γεννητικών κυττάρων ή<br>— θετικά αποτελέσματα δοκιμών που να εμφανίζουν μεταλλαξιγόνες επιπτώσεις στα γεννητικά κύτταρα του ανθρώπου, χωρίς να καταδεικνύουν μεταβίβαση στους απογόνους για παράδειγμα, αύξηση της συχνότητας εμφάνισης ανευπλοειδίας σε σπερματικά κύτταρα των ατόμων που είχαν εκτεθεί στην ουσία. |
| <b>ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ 2:</b>  | Ουσίες που προξενούν ανησυχία για τον άνθρωπο λόγω δυνατότητας πρόκλησης κληρονομικών μεταλλάξεων στα γεννητικά κύτταρα του ανθρώπου<br>Η ταξινόμηση στην κατηγορία 2 βασίζεται στα εξής:<br>— σε θετικά αποτελέσματα από πειράματα σε θηλαστικά και/ή, σε μερικές περιπτώσεις, από πειράματα <i>in vitro</i> που προκύπτουν από:<br>— <i>in vitro</i> δοκιμές μεταλλαξιογένεσης σε σωματικά κύτταρα θηλαστικών ή<br>— σε άλλες δοκιμές γονιδιατοξικότητας σε σωματικά κύτταρα <i>in vitro</i> οι οποίες υποστηρίζονται από θετικά αποτελέσματα δοκιμασιών μεταλλαξιογένεσης <i>in vitro</i> .<br>Σημείωση: Οι ουσίες που είναι θετικές στις δοκιμασίες μεταλλαξιογένεσης σε θηλαστικά <i>in vitro</i> και ταυτόχρονα παρουσιάζουν σχέση χημικής δομής/δράσης με γνωστά μεταλλαξιγόνα των γεννητικών κυττάρων, εξετάζονται ενόψει της ταξινόμησής τους ως μεταλλαξιγόνα κατηγορίας 2.  |

Οι παραπάνω κατηγορίες κινδύνου ακολουθούνται από τα αντίστοιχα εικονογράμματα και τις αντίστοιχες δηλώσεις επικινδυνότητας, όπως αυτές παρουσιάζονται παρακάτω:

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΟΓΡΑΜΜΑΤΩΝ:

| ΤΑΞΗ ΚΙΝΔΥΝΟΥ   | ΚΑΤΗΓΟΡΙΑ ΚΙΝΔΥΝΟΥ   |  |   |
|-----------------|--|--|---|
| Μεταλλαξιγένεση | 1A  | 1B  | 2  |

Σύμφωνα με τον κανονισμό CLP οι παρασκευαστές, οι εισαγωγείς και οι μεταγενέστεροι χρήστες οφείλουν να ταξινομούν και να επισημαίνουν μία ουσία ή τα μείγματα αυτής προκειμένου να διασφαλίζουν υψηλό επίπεδο προστασίας της ανθρώπινης υγείας και του περιβάλλοντος σε όλα τα κράτη μέλη της ΕΕ.

Παρακάτω παρατίθενται οι σημαντικότερες τάξεις κινδύνου που αφορούν την ανθρώπινη υγεία.

- i.** Οξεία τοξικότητα – Acute Toxicity :
  - i. Από στόματος
  - ii. Δια δέρματος
  - iii. Δια εισπνοής
- ii.** Διάβρωση/Ερεθισμός του δέρματος – Skin Corrosion/Irritation
- iii.** Σοβαρή οφθαλμική βλάβη/Ερεθισμός των οφθαλμών – Serious eye damage /eye irritation
- iv.** Ευαισθητοποίηση δέρματος/αναπνευστικού – Skin respiratory sensitization
- v.** Μεταλλαξιγένεση – Mutagenicity
- vi.** Καρκινογένεση – Carcinogenicity
- vii.** Τοξικότητα στην αναπαραγωγή – Reproductive toxicity
- viii.** Ειδική τοξικότητα σε όργανα στόχους, μια εφάπαξ έκθεση – STOT-SE
- ix.** Ειδική τοξικότητα σε όργανα στόχους, επαναλαμβανόμενη έκθεση - STOT-RE

## ΚΕΦΑΛΑΙΟ 7

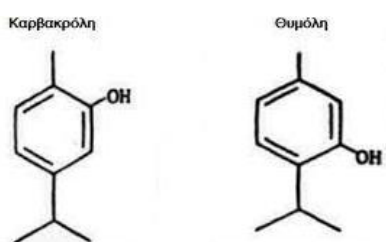
### ΜΕΛΕΤΗ ΚΑΙ ΑΞΙΟΛΟΓΗΣΗ ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΩΝ ΑΡΘΡΩΝ

Η μελέτη των επιστημονικών άρθρων έχει ως στόχο να μελετηθεί η τάξη κινδύνου Μεταλλαξιγένεση για την ουσία ριγανέλαιο, προκειμένου στην συνέχεια να αναλύσουμε το διάγραμμα ροής όπου θα φτάσουμε στην τελική αξιολόγηση της ουσίας, δηλαδή κατά πόσο αυτή καθ' αυτή η ουσία μπορεί να προκαλέσει μεταλλαξιγένεση ή τα παράγωγά της ή μεμονωμένα συστατικά της ή μείγματα αυτής.

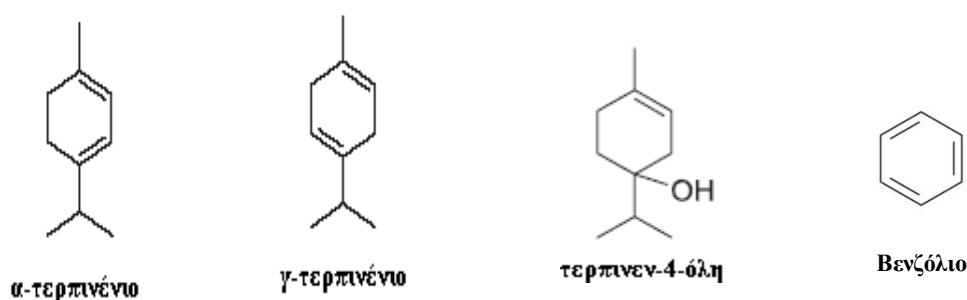
Για την αξιολόγηση της ουσίας μελετήθηκαν μελέτες τόσο βιβλιογραφικές όσο και in silico.

Όσον αφορά τις in silico μελέτες, δεν εξετάστηκαν μελέτες read across, αλλά έγινε ανάλυση της δομής της ουσίας ριγανέλαιο, ώστε να βεβαιωθούμε έναν οι δομές που περιλαμβάνονται στην ουσία αυτή προκαλούν ανησυχία. Πιο συγκεκριμένα, όπως έχει προαναφερθεί η ουσία αυτή περιέχει πληθώρα χημικών ουσιών με κάποιες από αυτές να βρίσκονται σε υψηλά ποσοστά. Αυτές είναι:

Καρβακρόλη και θυμόλη:



Α-τερπινένιο, γ-τερπινένιο, δ-τερπινεόλη και βενζόλιο:



Συγκρίνοντας τις παραπάνω δομές και τις δομές που προκαλούν ανησυχία, όπως παρουσιάζονται στον παρακάτω πίνακα (πίνακας 1), για πρόκληση μεταλλαξιγένεσης, αυτό που μπορεί να εξαχθεί σαν συμπέρασμα είναι ότι η ουσία ριγανέλαιο δεν φέρει τη χαρακτηριστική νιτροομάδα ( $\text{NO}_2$ ) ή τη χαρακτηριστική αμινομάδα ( $>\text{N}-$ ) ώστε να προκαλεί ιδιαίτερη ανησυχία, ωστόσο όπως παρουσιάζεται και παρακάτω σε κάποιες δομές ανησυχίας υπάρχει η χαρακτηριστική ομάδα του

βενζολίου όπως και στο ριγανέλαιο, η οποία δεν θα μπορούσε να περάσει απαρατήρητη, δεδομένου και του υψηλού ποσοστού που βρίσκεται στην ουσία που μελετάμε<sup>14</sup>. Συνεπώς, με βάση την *in silico* μελέτη δομών που προκαλούν ανησυχία καταλήγουμε στο συμπέρασμα ότι ίσως η ουσία αυτή να είναι μεταλλαξιγόνος. Μένει αυτό να επιβεβαιωθεί και από τις βιβλιογραφικές μελέτες που θα αναλυθούν παρακάτω.

Όσον αφορά τις βιβλιογραφικές μελέτες, αρχικά έγινε αναζήτηση σε επιστημονικούς ιστότοπους, όπως Google Scholar και Pub Med αναζητώντας μελέτες με βάση την ουσία, της οποίας εξετάζουμε την μεταλλαξιγένεση.

Βασική πηγή πληροφόρησης ήταν ο επιστημονικός ιστότοπος Pub Med.Gov, όπου χρησιμοποιήθηκαν συνδυαστικά διαφορετικές ονομασίες της ουσίας ριγανέλαιο που είχαν προηγουμένως βρεθεί στην βιβλιογραφία με ταυτόχρονο συνδυασμό του όρου *mutagen* για τον προσδιορισμό μελετών που έχουν εξετάσει την ουσία ριγανέλαιο ως προς την μεταλλαξιγένεσή της.

Με αυτό τον τρόπο καταλήξαμε σε 34 βιβλιογραφικές μελέτες, οι οποίες αξιολογήθηκαν με βάση τη συνάφεια, την αξιοπιστία και την επάρκεια, όπως αυτά είχαν περιγραφή και προγενέστερα.

Έτσι λοιπόν θα αξιολογηθεί κάθε μία κατηγορία ξεχωριστά με βαθμό από 1-4, με την μελέτη που λαμβάνει τον βαθμό 1 να είναι να είναι πλήρως αξιόπιστη και αποδεκτή, χωρίς αμφισβήτηση των δεδομένων της και την μελέτη που λαμβάνει το βαθμό 4 να μην είναι αποδεκτή γιατί δεν δίνονται επαρκή πειραματικά δεδομένα, πάρα μόνο σύντομες περιλήψεις αυτών ή δευτερογενής βιβλιογραφία.

Παρακάτω παρατίθενται η κάθε μελέτη ξεχωριστά, τα χαρακτηριστικά της και η αξιολόγηση την οποία έλαβε:

## I.

| ΜΕΛΕΤΗ   | ΕΙΔΗ                | ΕΥΡΟΣ ΔΟΣΕΩΝ     | ΦΥΛΟ | ΕΥΡΗΜΑΤΑ   |
|--|---------------------|------------------|------|--|
| Oregano Phytocomplex Induces Programmed Cell Death in Melanoma Lines via Mitochondria and DNA Damage | Αποικίες Salmonella | 0,01-01 mg/plate | -    | Σε όλες τις δοκιμασμένες δόσεις η αναλογία μεταξύ των αποικιών στελεχών Salmonella που αναπτύχθηκαν παρουσία εκχυλίσματος ρίγανης δεν ήταν ποτέ υψηλότερες ή διπλάσιες και δεν παρουσιάστηκε ποτέ τάση δόσης-απόκρισης |

Η παραπάνω μελέτη λαμβάνει βαθμό 3, καθώς το Ames test πραγματοποιήθηκε επιτυχώς, χωρίς ωστόσο τη διενέργεια περαιτέρω *in vitro* test, που θα μπορούσαν να επιβεβαιώσουν το αποτέλεσμα του Ames test και να επικαιροποιήσουν το αποτέλεσμα αυτής της μελέτης. Ωστόσο αξίζει να σημειωθεί ότι

<sup>14</sup> Mutagenic and carcinogenic structural alerts and their mechanisms of action. AljaPlošnik , MarjanVračko , and MarijaSollnerDolenc, National Institute of Chemistry Slovenia, Faculty of Pharmacy, University of Ljubljana , Ljubljana, Slovenia [Received in March 2016; CrossChecked in March 2016; Accepted in September 2016]

πραγματοποιήθηκαν επιπλέον test τα οποία όμως είναι αμφίβολα για το αποτέλεσμα που αναζητούμε εμείς στην εν λόγω εργασία.

## II.

| ΜΕΛΕΤΗ  | ΕΙΔΗ   | ΕΥΡΟΣ ΔΟΣΕΩΝ  | ΦΥΛΟ | ΕΥΡΗΜΑΤΑ  |
|---|--|---|------|---|
| <i>Origanum majorana</i> Essential Oil Lacks Mutagenic Activity in the <i>Salmonella</i> /Microsome and Micronucleus Assays | Αποικίες <i>Salmonella</i> , Chinese hamster | 0,5-1 µg/plate (Ames test), 0,003125-0,025 OMEO µL/ml (Micronucleus test) | -    | Και στις δύο δοκιμασίες η ουσία <i>O. Majorana essential oil</i> (διαφορετική ονομασία της ουσίας <i>origanum</i> ) δεν παρουσίασε στοιχεία μεταλλαξιογένεσης |

Η παραπάνω μελέτη λαμβάνει βαθμό 2 καθώς και το Ames test αλλά και το micronucleus test πραγματοποιήθηκαν με τη διαδικασία που έπρεπε και τα αποτελέσματα που παρουσιάστηκαν ήταν πλήρως αξιόπιστα και ακριβή.

## III.

| ΜΕΛΕΤΗ  | ΕΙΔΗ                         | ΕΥΡΟΣ ΔΟΣΕΩΝ | ΦΥΛΟ | ΕΥΡΗΜΑΤΑ  |
|---|------------------------------|--------------|------|---|
| Phytochemical Composition, Antioxidant and Antifungal Activity of <i>Thymus capitatus</i> , a Medicinal Plant Collected from Northern Morocco | Αποικίες <i>Salmonella</i> , | 100 µg/plate | -    | Στο Ames test που πραγματοποιήθηκε δεν βρέθηκε μεταλλαξιογόνος δραστηριότητα, ωστόσο αυτό από μόνο του δεν μπορεί να αποκλείσει τον τρόπο δράσης της ουσίας |

Η μελέτη αυτή χαρακτηρίζεται με 4 καθώς τα στοιχεία που παρουσιάστηκαν ήταν ελάχιστα και αμφίβολα για τον προσδιορισμό δράσης της ουσίας.

#### IV.

| ΜΕΛΕΤΗ   | ΕΙΔΗ        | ΕΥΡΟΣ ΔΟΣΕΩΝ                | ΦΥΛΟ   | ΕΥΡΗΜΑΤΑ   |
|--|-------------|-----------------------------|--|--|
| Use of micronucleus and comet assay to evaluate the genotoxicity of oregano essential oil (Origanum vulgare L. Virens) in rats orally exposed for 90 days. | Wistar rats | 50, 100 ή 200 mg/kg/day OEO | 23 αρσενικά και 23 θηλυκά (χωριζόμενα σε 5 ομάδες ανά φύλο, 5rats/ομάδα & 3rats/ομάδα θετικού control) | Δεν παρατηρήθηκαν σημαντικές διαφορές ανάμεσα στο Micronucleus test και στο Comet Assay σε επίμυες που εκτέθηκαν καθημερινά για 90 ημέρες στο εκχύλισμα της ουσίας. Επιπλέον δεν παρατηρήθηκε οξειδωτική βλάβη στους ιστούς που μελετήθηκαν στο Comet Assay. Σε κάποιες μελέτες έχει βρεθεί ότι η καρβακρόλη μπορεί να προκαλέσει χρωμοσωμικές ανωμαλίες σε Comet Assay σε αρουραίους, ενώ σε Micronucleus test και Comet Assay παρατηρήθηκε έλλειψη γονιδιοτοξικότητας της καρβακρόλης σε κύτταρα μυελού των οστών, ήπατος και στομάχου.<br>*Οι παραπάνω διαφορές μπορεί να είναι αποτέλεσμα μέτρησης διαφορετικών endpoints σε κάθε μελέτη, αλλά και διαφορετικής δράσης των κύριων και δευτερευόντων συστατικών του εκχυλίσματος ρίγανης (πρόσθετες, ανταγωνιστικές ή συνεργιστικές αποκρίσεις) |

Η παραπάνω μελέτη αξιολογείται με 2 καθώς παρουσιάζει λεπτομερώς την διενέργεια όλων των τεστ, χωρίς να αφήνει αμφιβολίες, ωστόσο λόγω κάποιων αντιφατικών αποτελεσμάτων με προηγούμενα tests, αξιολογείται με 2 και όχι με 1.

## V.

| ΜΕΛΕΤΗ   | ΕΙΔΗ                            | ΕΥΡΟΣ ΔΟΣΕΩΝ   | ΦΥΛΟ | ΕΥΡΗΜΑΤΑ   |
|--|---------------------------------|--|------|--|
| In vitro genotoxicity testing of carvacrol and thymol using the micronucleus and mouse lymphoma assays | L5178Y/Tk± mouse lymphoma cells | 0-250μM (Θυμόλη) ή 0-250μM (Καρβακρόλη) για το Micronucleustets, | -    | Η θυμόλη δεν παρουσίασε μεταλλαξιογόνο απόκριση και η δοκιμή κυτταροτοξικότητας δεν ανέδειξε μείωση της βιοδιαθεσιμότητας (λαμβάνοντας υπόψιν τις τιμές RTG). Όσον αφορά τη καρβακρόλη, σε συγκεντρώσεις >500Μμ παρατηρήθηκε έντονη μείωση σε σχέση με τη συνολική ανάπτυξη (RTG, Relative Total Growth), ωστόσο το ποσοστό ήταν κάτω από 20%, που είναι και το μέγιστο επίπεδο κυτταροτοξικότητας για δοκιμές μεταλλαξιογένεσης |

Η μελέτη αυτή αξιολογείται με 3, καθώς ανέδειξε κάποια στοιχεία κυτταροτοξικότητας για την καρβακρόλη σε υψηλές συγκεντρώσεις, τα οποία όμως δεν αξιολογούνται ως σημαντικά και απαιτείται περαιτέρω έλεγχος

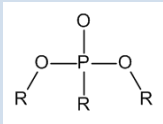
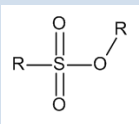
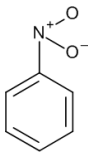
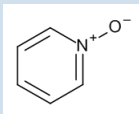
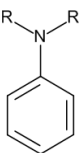
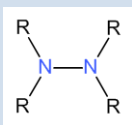

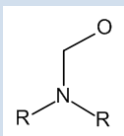
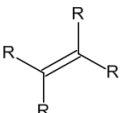
## VI.

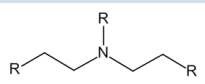
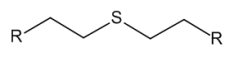
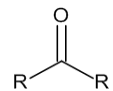
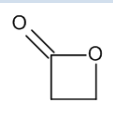
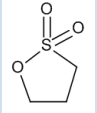

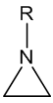
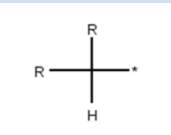
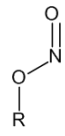
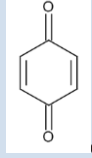
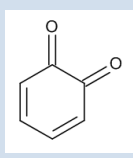
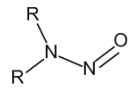
| ΜΕΛΕΤΗ   | ΕΙΔΗ             | ΕΥΡΟΣ ΔΟΣΕΩΝ   | ΦΥΛΟ      | ΕΥΡΗΜΑΤΑ  |
|--|------------------|--|-----------|---|
| Impact of aqueous doash extract on urinary mutagenicity in rats exposed to heterocyclic amines | Male albino rats | 1, 3, 5, or 10 mg/kg body weight of IQ, 1, 5, 10, or 20 mg/kg body weight of PhIP<br><br>*IQ: heterocyclic amine 2-amino-3-methylimidazo[4,5-f] quinolone<br>PhIP: 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine | Male rats | Σε καμία περίπτωση δεν επηρεάστηκε το σωματικό βάρος των αρουραίων. Η πρόσληψη 1 ημέρας ή ενός μήνα εκχυλίσματος τσαγιού doash δεν επηρέασε τον μεταβολισμό των 2 ενώσεων (IQ&PhIP) και η απέκκριση αυτών ήταν το ίδιο μειωμένη είτε μετά από έκθεση για 1 ημέρα είτε μετά από 1 μήνα, λόγω αναστολή του ενζύμου CYP1A2 του κυτοχρώματος P450, δίνοντας έτσι ως αποτέλεσμα ότι το ενεργό συστατικό του εκχυλίσματος doash, το τερπένιο, έχει διάρκεια ζωής 24 ωρών. |

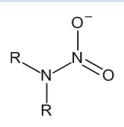
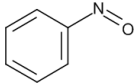
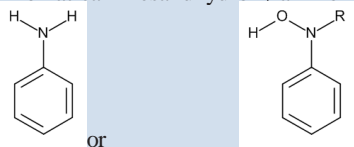
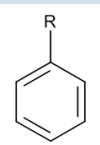

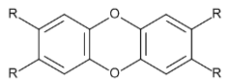
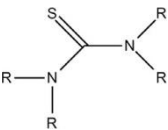
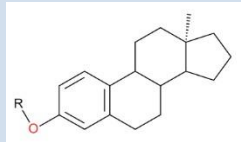
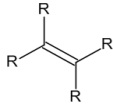
Η μελέτη αυτή αξιολογείται με 3 καθώς το αποτέλεσμα αφορά μόνο τις δύο ετεροκυκλικές αμίνες που μελετήθηκαν, και απαιτούνται περαιτέρω μελέτες για την αξιολόγηση της μεταλλαξιογένεσης του εκχυλίσματος τσαγιού doash σε πιο γενική μορφή και όχι μόνο για τις συγκεκριμένες αμίνες. Επίσης να σημειωθεί η έλλειψη πειραματικών δεδομένων.

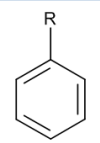

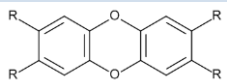
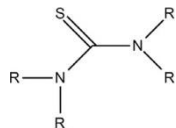
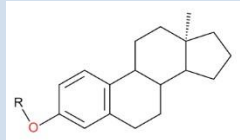
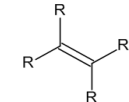


Πίνακας 1: Δομές που προκαλούν ανησυχία.

| Structural Alerts  | Examples  |
|--|---|
| <p>Alkylesters of either phosphonic or sulphonic acids</p> <div style="display: flex; align-items: center; justify-content: center;">  <span style="margin: 0 10px;">or</span>  </div> | <p>Tris(2,3-dibromopropyl) phosphate</p> <p>Ethyl methanesulphonate</p> |
| <p>Aromatic nitro groups</p>    | <p><i>O</i>-nitroanisole</p> <p>2-nitrotoluene</p>                      |
| <p>Aromatic <i>N</i>-oxides</p>    | <p><i>N'</i>-nitrosonornicotine-1-<i>N</i>-oxide</p>                    |
| <p>Aromatic mono- and dialkylaminogroups</p>    | <p>Michler's ketone</p> <p>Auramine</p>                                 |
| <p>Alkylhydrazines</p>    |   |
| <p>Simple aldehydes</p>   | <p>Formaldehyde</p> <p>Acetaldehyde</p> <p>Benzaldehyde</p>             |
| <p><i>N</i>-methylol derivatives</p>    | <p>Hexamethylolmelamine</p> <p><i>N</i>-methylolacrylamide</p>          |
| <p>Monohaloalkenes</p>  <p style="text-align: center;">R=[Br, Cl, F, I]</p>   | <p>Vinyl chloride</p> <p>Dimethylvinyl chloride</p>                     |

|  |   |
|--|---|
| <p>S-orN-mustards</p>  <p>or</p>  <p>R=[Br,Cl,F,I]</p> | <p>Chloroambucil</p> <p>Bis(2-chloroethyl)sulphide</p>                |
| <p>Acylhalides</p>  <p>R=[Br,Cl,F,I]</p>  | <p>Dimethylcarbamoylchloride</p>                                      |
| <p>Propiolactonesandpropiolactones</p>  <p>or</p>      | <p>Beta-butylolactone</p> <p>Beta-propiolactone</p>                   |
| <p>Epoxides and aziridines</p>  <p>or.</p>           | <p>Ethylene oxide</p> <p>Ethylene imine</p> <p>Thiotepa</p>           |
| <p>Aliphatic halogens</p>  <p>*=[Br,Cl,F,I]</p>   | <p>1,2-dibromoethane</p> <p>1,2-dichloroethane</p>                    |
| <p>Alkyl nitrite</p>    | <p>Isobutyl nitrite</p>   |
| <p>Quinones</p>  <p>or</p>                         | <p>9,10-anthraquinone</p> <p>Chrysazin</p>                            |
| <p>Alkyl and aryl N-nitroso group</p>   | <p>1-(2-hydroxyethyl)-1-nitrosourea</p> <p>N-nitrosodimethylamine</p> |

|  |   |
|--|---|
| Aliphatic <i>N</i> -nitrogroup<br>  | Dimethylnitramine<br><i>N</i> -methyl- <i>N'</i> -nitro- <i>N</i> -nitrosoguanidine |
| Aromatic nitrosogroup<br>   | <i>o</i> -nitrosotoluene<br>4-nitrosodiphenylamine                                  |
| Aromatic amines and hydroxylamine<br>                                       | para-Cresidine<br>2-aminodipyrro[1,2-a:3',2'-d]imidazole                            |
| Structural alert   | Example   |
| Halogenated benzene<br><br>R=[Br, Cl, F, I]                                 | 1,4-Dichlorobenzene<br>Ethyl 2-(4-chlorophenoxy)-2-methylpropionate                 |
| Halogenated polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)<br><br>R=[Br, Cl, F, I] | Benzo[a]pyrene<br>DDT<br>Aroclor 1260<br>Dihydrodiolepoxides                        |
| Halogenated dibenzodioxins<br><br>R=[Br, Cl, F, I]                        | 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo- <i>p</i> -dioxin<br>1,2,3,6,7,8-hexachlorodibenzodioxin |
| Thiocarbonyls<br>   | Thiosemicarbazide<br>2-methyl-3-thiosemicarbazide                                   |
| Steroidal oestrogens<br>  | Catechols<br>2-methoxyestrone<br>4-hydroxyestradiol<br>2-hydroxyestrone             |
| Trichloro(/fluoro) or Tetrachloro(/fluoro)ethylene<br><br>R=[Cl, F]       | Chloroethylene<br>Tetrafluoroethylene   |

| Structural alert  | Example  |
|---|--|
| <p>Halogenated benzene</p>  <p>R=[Br,Cl,F,I]</p>                               | <p>1,4-Dichlorobenzene</p> <p>Ethyl 2-(4-chlorophenoxy)-2-methylpropionate</p>               |
| <p>Halogenated polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH)</p>  <p>R=[Br,Cl,F,I]</p> | <p>Benzo[a]pyrene</p> <p>DDT</p> <p>Aroclor 1260</p> <p>Dihydrodiolepoxides</p>              |
| <p>Halogenated dibenzodioxins</p>  <p>R=[Br,Cl,F,I]</p>                        | <p>2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-<i>p</i>-dioxin</p> <p>1,2,3,6,7,8-hexachlorodibenzodioxin</p> |
| <p>Thiocarbonyls</p>    | <p>Thiosemicarbazide</p> <p>2-methyl-3-thiosemicarbazide</p>                                 |
| <p>Steroid oestrogens</p>    | <p>Catechols</p> <p>2-methoxyestrone</p> <p>4-hydroxyestradiol</p> <p>2-hydroxyestrone</p>   |
| <p>Trichloro(/fluoro) or Tetrachloro(/fluoro)ethylene</p>  <p>R=[Cl,F]</p>   | <p>Chloroethylene</p> <p>Tetrafluoroethylene</p>   |

## ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ

Από την παρούσα βιβλιογραφική μελέτη μας δόθηκε η ευκαιρία να κατανοήσουμε το πόσο σημαντικές είναι διάφορες ουσίες που χρησιμοποιούνται συχνά και είναι στη διατροφή μας για την υγείας μας εν γένει.

Αρχικά τονίστηκε η πληθώρα φυσικοχημικών ιδιοτήτων της εν λόγω ουσίας, καθώς και η ιδιαιτερότητα των εκχυλίσμάτων τέτοιων ουσιών, λόγω του μεγάλου όγκου και την ποικιλομορφίας των χημικών ουσιών που περιέχονται στα εκχυλίσματα αυτών και μπορούν να τροποποιούν τους χημικούς “φαινοτύπους” των αρχικών ουσιών. Για το λόγο αυτό είναι αναγκαίο η ουσία αυτή, όπως και κάθε άλλη ουσία που διακινείται στην αγορά να ελέγχεται πριν από οποιαδήποτε χρήση.

Με βάση τα παραπάνω γίνεται σαφές ότι η εφαρμογή του κανονισμού REACH είναι αναγκαία και σε αυτή την περίπτωση, καθώς ο κανονισμός αυτός περιέχει όλες εκείνες τις προδιαγραφές οι οποίες πρέπει να ελεγχθούν, προκειμένου η προς εξέταση ουσία να είναι τελικά πλήρως ασφαλής προς χρήση για την υγεία του ανθρώπου αλλά και του περιβάλλοντος. Αξίζει να αναφερθεί ότι ανάλογα με την ποσοτική κατηγορία στην οποία ανήκει η υπό εξέταση ουσία υπάρχουν και διαφορετικοί παράμετροι που πρέπει να ελεγχθούν, σύμφωνα με τον κανονισμό REACH.

Ως ενδεικνύόμενο εργαλείο για την αξιολόγηση μίας χημικής ουσίας, σύμφωνα πάντα με τις απαιτήσεις του REACH, και αυτό που χρησιμοποιήθηκε στην παρουσία μελέτη ήταν το εργαλείο ToxRTool, με βάση το οποίο αξιολογήθηκαν διαθέσιμες πληροφορίες από επιστημονικά άρθρα που μελετούσαν την ουσία ριγανέλαιο, και τα εκχυλίσματα αυτής, ως προς την μεταλλαξιογένεσής της.

Οι τρεις άξονες αξιολόγησης των άρθρων ήταν η επάρκεια, η συνάφεια και η αξιοπιστία αυτών. Με την εκπόνηση της αξιολόγησης, αξίζει να σημειωθεί ότι παρατηρήθηκαν τα εξής:

- Μη πρόκληση οξειδωτικής βλάβης στους ιστούς των ζώων που μελετήθηκαν αλλά ούτε γονιδιοτοξική δράση σε κύτταρα μυελού των οστών, ήπατος ή στομάχου, ούτε αύξηση ή μείωση του σωματικού βάρους αυτών, ακόμα και μετά από έκθεση 90 ημερών.
- Η καρβακρόλη (χημική ουσία του εκχυλίσματος ρίγανης) παρουσίασε σε μία μελέτη που εξετάστηκε να έχει χρωμοσωμικές ανωμαλίες, αλλά δεν επιβεβαιώθηκε από άλλες μελέτες, οπότε και δεν μπορεί να αξιολογηθεί ως προς την εγκυρότητάς της η πληροφορία αυτή.
- Επίσης, η ουσία θυμόλη (επίσης συστατικό του εκχυλίσματος την εν λόγω ουσίας) δεν παρουσίασε μεταλλαξιγόνο δράση σε micronucleus test και mouse lymphoma assay, καθιστώντας και αυτή την ουσία μη μεταλλαξιγόνα και άρα και την ουσία από της οποίας προέρχεται το εκχύλισμα.
- Σε Ames test, όπως αυτό αναλύεται σε άρθρο που μελετήθηκε, δεν παρουσιάστηκε σε καμία δόση αύξηση ή μείωση των στελεχών *Salmonella* με αποτέλεσμα να μην παρουσιάζεται σχέση δόσης-απόκρισης. Με αυτό τον τρόπο επιβεβαιώνεται η μη μεταλλαξιογόνος δράση της ουσίας, αυτή τη φορά όχι σε ζώα, αλλά σε αποικίες *Salmonella*.
- Σε κανένα από τα άρθρα που μελετήθηκαν δεν παρουσιάστηκε μεταλλαξιογόνος δράση της ουσίας.

## **ΒΙΒΛΙΟΤΡΑΦΙΑ**

1. Extraction, Chemical Composition, and Anticancer Potential of Origanum onites L. Essential Oil. Katerina Spyridopoulou, Eleni Fitsiou, Eleni Bouloukosta, Angeliki Tiptiri-Kourpeti, Manolis Vamvakias, Antigoni Oreopoulou, Eleni Papavassilopoulou, Aglaia Pappa and Katerina Chlichlia. Published: 18 July 2019
2. Evaluation of the ToxRTool's ability to rate the reliability of toxicological data for human health hazard assessments. June 2015, Pages 94-101
3. Chemical composition and bioactivity of different oregano (Origanum vulgare) extracts and essential oil. Barbara Teixeira, Antonio Marques, Cristina Ramos, Carmo Serrano, Olívia Matos, Nuno R Neng, Jose M F Nogueira, Jorge Alexandre Saraiva and Maria Leonor Nunes. Published: 4 February 2013
4. Guidance on information requirements and chemical safety assessment Chapter R.2: Framework for generation of information on intrinsic properties. In this guidance these are described as category (grouping) and analogue (read-across) approaches respectively.
5. Guidance on information requirements and chemical safety assessment Part B: Hazard assessment. B.4 EVALUATION OF AVAILABLE INFORMATION p. 7-10
6. "ToxRTool", a new tool to assess the reliability of toxicological data. Klaus Schneider, Markus Schwarz, Iris Burkholder, Annette Kopp-Schneider, Lutz Edler, Agnieszka Kinsner-Ovaskainen, Thomas Hartung, Sebastian Hoffmann. June 2009, 138-144
7. Ευρωπαϊκός Οργανισμός Χημικών Προϊόντων
8. Καθοδήγηση σχετικά με τις απαιτήσεις πληροφοριών και την αξιολόγηση χημικής ασφάλειας Μέρος Β: Αξιολόγηση επικινδυνότητας. ECHA. Pages 32-33
9. Κανονισμός (ΕΚ) αριθ. 1272/2008 του Ευρωπαϊκού Κοινοβουλίου και Συμβουλίου της 16ης Δεκεμβρίου 2008 για την ταξινόμηση, την επισήμανση και τη συσκευασία των ουσιών και μειγμάτων (CLP)

## **ΙΣΤΟΛΟΓΙΑ**

1. <https://echa.europa.eu/el/regulations/reach/registration/information-requirements>
2. <https://echa.europa.eu/el/support/getting-started>

### 3. ΚΑΤΑΝΟΗΣΗ ΤΟΥ REACH.

<https://echa.europa.eu/el/regulations/reach/understanding-reach>

### 4. ΠΩΣ ΛΕΙΤΟΥΡΓΕΙ Ο ΚΑΝΟΝΙΣΜΟΣ REACH

<https://echa.europa.eu/el/regulations/reach/understanding-reach>

### 5. <https://echa.europa.eu/el/regulations/clp/understanding-clp4>

### 6. <https://echa.europa.eu/el/support/mixture-classification/decide-on-classification-and-labelling>

### 7. <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EL/TXT/?qid=1564737024277&uri=CELEX%3A3...>

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ ΑΡΘΡΩΝ

**MEΛETH I:** Oregano Phytocomplex Induces Programmed Cell Death in Melanoma Lines via Mitochondria and DNA Damage.

Valentina Nanni, Gabriele Di Marco, Gianni Sacchetti , Antonella Canini , Angelo Gismondi

Department of Biology, University of Rome "Tor Vergata", Via della Ricerca Scientifica 1, 00133 Rome, Italy.

Terra&Acqua Tech-Research Unit 7, Pharmaceutical Biology Lab, Department of Life Sciences and Biotechnology, University of Ferrara, Piazzale Luciano Chiappini 3, 44123 Ferrara, Italy.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7603152/>

**MEΛETH II:** Origanum majorana Essential Oil Lacks Mutagenic Activity in the Salmonella/Microsome and Micronucleus Assays.

Andrea Dos Santos Dantas , Luiz Carlos Klein-Júnior, Miriana S Machado, Temenouga N Guecheva , Luciana D Dos Santos, Régis A Zanette, Fernanda B de Mello, João Antonio Pêgas Henriques, João Roberto Braga de Mello

Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil; Laboratório de Produtos Naturais/Fitoquímica-Farmacologia e Toxicologia Veterinária, Departamento de Farmacologia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

Laboratório de Farmacognosia e Controle de Qualidade de Fitomedicamentos, Faculdade de Farmácia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

Laboratório de Reparação de DNA em Eucariotos, Departamento de Biofísica/Centro de Biotecnologia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

Laboratório de Produtos Naturais/Fitoquímica-Farmacologia e Toxicologia Veterinária, Departamento de Farmacologia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil; Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Terapêutica, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

Laboratório de Produtos Naturais/Fitoquímica-Farmacologia e Toxicologia Veterinária, Departamento de Farmacologia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil; Laboratório de Produtos Naturais/Fitoquímica-Farmacologia e Toxicologia Veterinária, Departamento de Farmacologia, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil; Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Terapêutica, UFRGS, Porto Alegre, RS, Brazil.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5116495/>

**MEAEETH III:** Phytochemical Composition, Antioxidant and Antifungal Activity of *Thymus capitatus*, a Medicinal Plant Collected from Northern Morocco.

Amina Benoutman, El Hadi Erbiai, Fatima Zahra Edderdaki, El Khalil Cherif, Rabah Saidi, Zouhaire Lamrani, Manuela Pintado, Eugénia Pinto, Joaquim C G Esteves da Silva, Abdelfettah Maouni

Biology, Environment, and Sustainable Development Laboratory, ENS, Abdelmalek Essaadi University, Tetouan 93000, Morocco.

Chemistry Research Unit (CIQUP), Institute of Molecular Sciences (IMS), DGAOT, Faculty of Sciences, University of Porto, 4169-007 Porto, Portugal.

Institute for Systems and Robotics, Instituto Superior Técnico, University of Lisbon, 1049-001 Lisboa, Portugal.

CBQF-Centro de Biotecnologia e Química Fina, Laboratório Associado, Escola Superior de Biotecnologia, Universidade Católica Portuguesa, 4169-005 Porto, Portugal.

Laboratory of Microbiology, Biological Sciences Department, Faculty of Pharmacy, University of Porto (FFUP), 4050-313 Porto, Portugal.

CIIMAR-Interdisciplinary Center of Marine and Environmental Research, University of Porto, 4050-313 Porto, Portugal.

<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9137586/>

**MEAEETH IV:** Use of micronucleus and comet assay to evaluate the genotoxicity of oregano essential oil (*Origanum vulgare* L. Virens) in rats orally exposed for 90 days.

María Llana-Ruiz-Cabello, María Puerto, Sara Maisanaba, Remedios Guzmán-Guillén, Silvia Pichardo, Ana M Cameán



Area of Toxicology, Faculty of Pharmacy , Universidad de Sevilla , Seville , Spain.

<https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1080/15287394.2018.1447522>

**MEAETHV:** In vitro genotoxicity testing of carvacrol and thymol using the micronucleus and mouse lymphoma assays.

Sara Maisanaba, Ana I Prieto, Maria Puerto, Daniel Gutiérrez-Praena, Eşref Demir, Ricard Marcos, Ana M Cameán

Area of Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Sevilla, 41012 Sevilla, Spain.

Department of Biology, Faculty of Sciences, Akdeniz University, 07030-Campus, Antalya, Turkey.

Group of Mutagenesis, Department of Genetics and Microbiology, University Autònoma of Barcelona, Cerdanyola del Vallès, Barcelona, Spain; CIBER Epidemiology and Public Health, Instituto de Salud Carlos III, Spain.

Area of Toxicology, Faculty of Pharmacy, University of Sevilla, 41012 Sevilla, Spain. Electronic address: [saramh@us.es](mailto:saramh@us.es).

<https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2015.05.005>

**MEAETH VI:** Impact of aqueous doash extract on urinary mutagenicity in rats exposed to heterocyclic amines.

Jehan A Khan, Jalaluddin A Jalal, C Ioannides, Said S Moselhy

Biology Department, King Abdulaziz University, Kingdom of Saudi Arabia.

<https://sci-hub.se/https://doi.org/10.1177/0748233711427053>