

14 DECEMBER 1998. - Koninklijk besluit tot wijziging van het koninklijk besluit van 24 mei 1982 houdende reglementering van het in de handel brengen van stoffen die gevaarlijk kunnen zijn voor de mens of voor zijn leefmilieu

Bijlage II A

"DEEL B : METHODEN VOOR DE BEPALING VAN DE TOXICITEIT EN ANDERE INVLOEDEN OP DE GEZONDHEID

ALGEMENE INLEIDING : DEEL B

A. VERKLARENDE NOOT

Voor de doeleinden van deze richtlijn wordt de volgende nummering toegepast :

- B.15. Genmutatie - *Saccharomyces cerevisiae*
- B.16. Mitotische recombinatie - *Saccharomyces cerevisiae*
- B.17. Genmutatietest - zoogdiercellen in vitro
- B.18. DNA-beschadiging en -herstel - DNA-herstelsynthese - zoogdiercellen in vitro
- B.19. Zusterchromatiden-uitwisselingstest in vitro
- B.20. Test op recessief-letale mutaties van geslachtsgebonden genen bij *Drosophila melanogaster*
- B.21. Transformatietest op zoogdiercellen in vitro
- B.22. Test op dominant-letale mutaties bij knaagdieren
- B.23. Cytogenetisch onderzoek van geslachtscellen van zoogdieren in vivo
- B.24. Vlekkentest op muizen
- B.25. Erfelijke translocaties bij de muis
- B.26. Subchronische orale toxiciteitstest : 90-daagse herhaalde orale toediening aan knaagdiersoorten
- B.27. Subchronische orale toxiciteitstest : 90-daagse herhaalde orale toediening aan niet-knaagdiersoorten
- B.28. Subchronische dermale toxiciteitstest : 90-daagse herhaalde dermale toediening aan knaagdiersoorten
- B.29. Subchronische inhalatietoxiciteitstest : 90-daagse herhaalde inhalatoire toediening aan knaagdiersoorten
- B.30. Chronische-toxiciteitstest
- B.31. Teratogeniteitstest bij knaagdieren en niet-knaagdieren
- B.32. Carcinogeniteitstest

- B.33. Gecombineerde test op chronische toxiciteit en carcinogeniteit
- B.34. Test op reproductietoxiciteit over één generatie
- B.35. Test op reproductietoxiciteit over twee generaties
- B.36. Toxicokinetica

B. ALGEMENE DEFINITIES VAN DE BEGRIPPEN DIE GEBRUIKT WORDEN BIJ DE TESTMETHODEN IN DEZE BIJLAGE

- i. Acute toxiciteit omvat de schadelijke effecten die binnen een gegeven tijd (meestal 14 dagen) na de toediening van een enkelvoudige dosis van een stof optreden.
- ii. Manifeste toxiciteit is een algemene term die duidelijke toxiciteitsverschijnselen beschrijft die optreden na de toediening van de teststof. Deze verschijnselen moeten een risicobepaling mogelijk maken en van een zodanige aard zijn dat verwacht mag worden dat bij een hogere toegediende dosis ernstige toxische verschijnselen en waarschijnlijk sterfte optreden.
- iii. Dosis is de toegediende hoeveelheid teststof. De dosis wordt uitgedrukt als gewicht (gram of milligram) of als het gewicht van de teststof per gewichtseenheid van het proefdier (bij voorbeeld mg per kg lichaamsgewicht) of als constante concentratie in het dieet (ppm, delen per miljoen of mg per kg voedsel).
- iv. Discriminerende dosis is het hoogste van de vier vaste dosisniveaus dat kan worden toegediend zonder dat met de teststof verband houdende sterfte wordt veroorzaakt (met inbegrip van de proefdieren die moeten worden afgemaakt).
- v. Dosering is een algemeen begrip dat de dosis, de frequentie en de duur van de toediening omvat.
- vi. LD₅₀ (letale-dosismediaan) is de statistisch vastgestelde enkelvoudige dosis van een stof waarvan kan worden verwacht dat bij 50 % van de dieren die de dosis hebben ontvangen de dood intreedt. De LD₅₀-waarde wordt uitgedrukt in het gewicht van de teststof per gewichtseenheid proefdier (mg/kg).
- vii. LC₅₀ (letale-concentratiediaan) is de statistisch vastgestelde concentratie van een stof waarvan kan worden verwacht dat bij 50 % van de gedurende een bepaalde tijd blootgestelde dieren, tijdens de blootstelling of binnen een bepaalde tijd na de blootstelling de dood intreedt. De LC₅₀-waarde wordt uitgedrukt in het gewicht van de teststof per standaardvolume lucht (mg/l).
- viii. NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) is de afkorting voor de hoogste dosis of het hoogste niveau van blootstelling waarbij nog geen waarneembare toxiciteitsverschijnselen optreden die verband houden met de behandeling.
- ix. Subchronische toxiciteit bij herhaalde dosis omvat de schadelijke effecten die

optreden bij proefdieren ten gevolge van herhaalde dagelijkse toediening van, of blootstelling aan een chemische stof gedurende een kort gedeelte van hun verwachte levensduur.

- x. De maximale verdraagbare dosis (Maximum Tolerated Dose - MTD) is het hoogste dosisniveau dat tekenen van toxiciteit bij proefdieren tot gevolg heeft zonder dat dit belangrijke gevolgen heeft voor de overleving in de test waarin ze wordt gebruikt.
- xi. Huidirritatie is het ontstaan van een ontstekingsreactie in de huid door het toedienen van een teststof op de huid.
- xii. Oogirritatie is het ontstaan van veranderingen in het oog door het toedienen van een teststof op het oppervlak aan de voorzijde van het oog.
- xiii. Sensibilisatie van de huid (allergische contactdermatitis) is een via het immuunsysteem veroorzaakte reactie van de huid op een stof.
- xiv. Huidaantasting is het optreden van irreversibele huidweefselbeschadiging na het toedienen van een teststof gedurende een periode van 3 minuten tot 4 uur.
- xv. Toxicokinetica is de bestudering van de absorptie, de distributie, het metabolisme en de excretie van teststoffen.
- xvi. Absorptie is het (geheel van) proces(sen) waardoor een toegediende stof het lichaam binnenkomt.
- xvii. Excretie is het (geheel van) proces(sen) waardoor de toegediende stof en/of de metabolieten daarvan door het lichaam worden uitgescheiden.
- xviii. Distributie is het (geheel van) proces(sen) waardoor de geabsorbeerde stof en/of de metabolieten daarvan over het lichaam worden verdeeld.
- xix. Metabolisme is het (geheel van) proces(sen) waardoor de toegediende stoffen in het lichaam chemisch worden veranderd door enzymatische of niet-enzymatische reacties.

B.I Acute toxiciteit, subchronische toxiciteit bij herhaalde dosis en chronische toxiciteit.

De acute toxicologische effecten en de orgaan- of systeemtoxiciteit van een stof kunnen worden vastgesteld via een aantal toxiciteitstesten (methoden B.1-B.5) waarmee, na toediening van een enkele dosis, een eerste indicatie van de toxiciteit kan worden verkregen.

Afhankelijk van de toxiciteit van de stof kan worden overwogen een limietproef in plaats van een volledige LD₅₀ uit te voeren. Er is echter geen limietproef gespecificeerd bij inhalatieonderzoek omdat het niet mogelijk is gebleken om een ondubbelzinnige blootstellingslimiet bij inhalatie te definiëren.

Bij voorkeur moeten methoden worden toegepast waarbij zo weinig mogelijk proefdieren worden gebruikt en waarbij ongerief en pijn de proefdieren worden

geminimaliseerd, bij voorbeeld door gebruik van de vaste-dosismethode (methode B.1 bis) en de bepaling van de acute-toxiciteitsklasse (methode B.1 ter). Bij proeven op het eerste niveau kunnen de resultaten van het eerste onderzoek worden aangevuld door onderzoek bij een tweede diersoort. In dit geval kan een standaard-testmethode worden gebruikt of kan de methode worden aangepast voor een kleiner aantal proefdieren.

De toxiciteitstest door herhaalde toediening (methoden B.7, B.8 en B.9) omvat de evaluatie van toxische effecten die het gevolg zijn van herhaalde blootstelling. Van groot belang is nauwkeurige klinische observatie van de proefdieren om zoveel mogelijk informatie te verkrijgen. Door deze proeven moet het mogelijk worden om de toxicologische doelwitorganen alsmede de toxische en niet-toxische doses te bepalen. Verder gedetailleerd onderzoek van deze aspecten kan nodig zijn in onderzoek op langere termijn (methoden B.26-B.30 en B.33).

B.II Mutageniteit - Genotoxiciteit

Mutageniteit heeft betrekking op het veroorzaken van permanente erfelijke veranderingen in de hoeveelheid of de structuur van het erfelijk materiaal van cellen of organismen. Deze veranderingen (mutaties) kunnen een enkel gen of gensegment, een genenblok of één of meer volledige chromosomen betreffen. De chromosomale effecten kunnen van structurele en/of numerieke aard zijn.

De mutagene activiteit van een stof wordt in vitro vastgesteld voor puntmutaties bij bacteriën (methoden B.13/14) en/of voor structurele chromosoomafwijkingen bij zoogdiercellen (methode B.10).

Ook in vivo procedures, zoals de micronucleustest (methode B.12) of de metafaseanalyse bij beenmergcellen (methode B.11) zijn aanvaardbaar. Bij afwezigheid van contra-indicaties hebben de in vitro methoden echter verre de voorkeur.

Voor hogere produktievolumes en/of met het oog op de uitvoering of nadere uitwerking van een risicobeoordeling, kunnen aanvullende onderzoeken van de mutageniteit en pre-screening op carcinogeniteit nodig zijn. Deze kunnen voor een aantal doelen worden gebruikt : om resultaten van de basistests te bevestigen, om parameters te evalueren die niet in de basistests zijn onderzocht en om in vivo onderzoek op te zetten of uit te breiden.

Hiertoe omvatten de methoden B.15 tot B.25 zowel in vivo als in vitro eukaryotische systemen en een uitgebreide reeks biologische parameters ("end-points"). Deze proeven geven informatie over puntmutaties en andere parameters

in organismen die complexer zijn dan de bacteriën die in de basistests worden gebruikt.

Als een programma van verder mutageniteitsonderzoek wordt overwogen, moet de opzet in principe zodanig zijn dat relevante aanvullende informatie over de mogelijke mutagene en/of carcinogene eigenschappen van de stof wordt verkregen.

Welk onderzoek in een bepaald geval geschikt is hangt af van een groot aantal factoren zoals : de chemische en fysische eigenschappen van de stof, de resultaten van voorafgaand bacteriologisch en cytogenetisch onderzoek, het metabolisch profiel van de stof, de resultaten van andere toxiciteitsonderzoeken en de toepassingen van de stof voor zover deze bekend zijn. In het licht van de verscheidenheid van factoren die eventueel nader onderzoek verdienen, is het niet gewenst om ten aanzien van de aard van de uitgevoerde proeven strikte regels vast te stellen.

In KB van 13 november 1997 is een aantal algemene beginselen vastgelegd. Duidelijke teststrategieën kunnen worden gevonden in de technische leidraad met betrekking tot risicobepaling; die is echter flexibel en kan naar behoefte worden aangepast aan specifieke omstandigheden.

Hieronder zijn methoden voor verder onderzoek opgesomd op basis van het voornaamste genetische criterium.

Onderzoek op gen(punt)mutaties

- a. Vooruit- of terugmutatieonderzoek waarbij eukaryotische micro-organismen (*Saccharomyces cerevisiae*) worden gebruikt (methode B.15)
- b. In vitro onderzoek op vooruitmutaties bij zoogdiercellen (methode B.17)
- c. Bepaling van recessief-letale mutaties van geslachtsgebonden genen bij *Drosophila melanogaster* (methode B.20)
- d. In vivo bepaling van somatische mutaties, vlekentest op muizen (methode B.24)

Onderzoek op chromosoomafwijkingen

- a. In vivo cytogenetische tests op zoogdieren; in vivo metafaseanalyse van beenmergcellen kan worden overwogen als dit niet bij het eerste onderzoek is gedaan (methode B.11). Verder kan in vivo cytogenetisch onderzoek worden verricht op geslachtscellen (methode B.23)
- b. In vitro cytogenetische tests op zoogdiercellen als dit niet bij het eerste

onderzoek is gedaan (methode B.10)

- c. Onderzoek op dominant-letale mutaties bij knaagdieren (methode B.22)
- d. Onderzoek op erfelijke translocaties bij muizen (methode B.25)

Genotoxische effecten - effecten op DNA

Genotoxiciteit, waaronder wordt verstaan de mogelijk schadelijke effecten op genetisch materiaal die niet direct geassocieerd zijn met mutageniteit, kan worden aangetoond als schade aan het DNA zonder directe tekenen van mutatie. De volgende methoden, die gebruik maken van eukaryotische micro-organismen of zoogdiercellen, kunnen voor dergelijk onderzoek worden gebruikt :

- a. Mitotische recombinatie bij *Saccharomyces cerevisiae* (methode B.16)
- b. DNA-beschadiging en -herstel - DNA-herstelsynthese - zoogdiercellen in vitro (methode B.18)
- c. Zusterchromatidenuitwisseling bij zoogdiercellen in vitro (methode B.19)

Alternatieve methoden voor onderzoek naar mogelijke carcinogeniteit

Er zijn transformatietests voor zoogdiercellen beschikbaar die het vermogen meten van een stof om in celculturen morfologische en gedragsveranderingen te veroorzaken die waarschijnlijk samenhangen met kwaadaardige veranderingen in vivo (methode B.21). Er kunnen verschillende celtypes en verschillende transformatiecriteria worden gebruikt.

Risicobeoordeling van erfelijke effecten bij zoogdieren

Er bestaan methoden voor het meten van erfelijke effecten bij zoogdieren die worden veroorzaakt door gen(punt)mutaties, bij voorbeeld de specifieke-locustest bij muizen, voor het meten van geslachtscelmutaties bij de eerste generatie (niet in deze bijlage opgenomen), en voor chromosoomafwijkingen, bij voorbeeld de test op erfelijke translocatie bij muizen (methode B.25). Dergelijke methoden kunnen worden gebruikt bij het evalueren van het genetisch risico van een stof voor de mens. Gezien de complexiteit van deze onderzoeken en het zeer grote aantal benodigde proefdieren, zeker bij de specifieke-locustest, zijn echter goede redenen nodig om deze uit te voeren.

B.III Carcinogeniteit

Chemische stoffen kunnen, afhankelijk van het veronderstelde werkingsmechanisme, worden getypeerd als wel- of niet-genotoxische carcinogenen.

Het onderzoek op mutageniteit/genotoxiciteit kan reeds informatie over het genotoxisch-carcinogene vermogen van een stof opleveren nog vóór een screening wordt uitgevoerd. Aanvullende informatie kan worden verkregen uit subchronische of chronische toxiciteitstest waarbij herhaalde doses worden toegediend. De toxiciteitstest met herhaalde toediening, methode B.7 en onderzoeken met langer herhaalde doses omvatten de bepaling van histopathologische veranderingen, bij voorbeeld hyperplasie in bepaalde weefsels, die een aanwijzing kunnen vormen. Deze onderzoeken en toxicologische gegevens kunnen bijdragen tot het identificeren van stoffen met mogelijke carcinogeniteit, waarna dit aspect eventueel grondiger moet worden onderzocht via een carcinogeniteitstest (methode B.32) of vaak ook een gecombineerd onderzoek op chronische toxiciteit en carcinogeniteit (methode B.33).

B.IV Reproductietoxiciteit

Reproductietoxiciteit kan op verschillende manieren worden vastgesteld, bij voorbeeld door verslechtering van de mannelijke en vrouwelijke voortplantingsfuncties of -capaciteit, "effecten op de vruchtbaarheid" genoemd. Dit laatste aspect omvat ook teratogeniteit en effecten die optreden tijdens de lactatie.

Bij onderzoek op teratogeniteit, als onderdeel van onderzoek op ontwikkelingstoxiciteit, is de onderzoeksmethode (methode B.31) voornamelijk gericht op toediening via orale weg. Als alternatief kunnen ook andere wegen gekozen worden, afhankelijk van de fysische eigenschappen van de te onderzoeken teststof of de waarschijnlijke wijze van blootstelling bij de mens. In zulke gevallen moet de methode op een passende manier gewijzigd worden met inachtneming van de relevante elementen van de 28-daagse testmethode.

Als een voortplantings(vruchtbaarheids)onderzoek over drie generaties nodig is kan de beschreven methode voor voortplantingsonderzoek over twee generaties (methode B.35) tot drie generaties worden verlengd.

B.V Neurotoxiciteit

Neurotoxiciteit kan op verschillende manieren worden vastgesteld, bij voorbeeld door functionele veranderingen en/of structurele en biochemische veranderingen in het centrale of het perifere zenuwstelsel. Een eerste indicatie van neurotoxiciteit kan worden verkregen uit onderzoek naar acute toxiciteit. De toxiciteitstest met herhaalde toediening (methode B.7) houdt ook het vaststellen van neurotoxicologische effecten in, en de nadruk moet worden gelegd op nauwkeurige klinische waarnemingen om zoveel mogelijk informatie te verkrijgen. De methode moet het mogelijk maken om stoffen te identificeren die een neurotoxische werking

kunnen hebben, waarna verder, diepgaand onderzoek naar dit aspect nodig kan zijn. Verder is het van belang om rekening te houden met de mogelijkheid dat stoffen een specifieke neurotoxische werking kunnen hebben die met ander toxiciteitsonderzoek niet ontdekt kan worden. Bij bepaalde organische fosforverbindingen is bij voorbeeld een vertraagde neurotoxische werking ontdekt die vastgesteld kan worden met de methoden B.37 en B.38 na enkelvoudige of herhaalde blootstelling.

B.VI Immunotoxiciteit

Immunotoxiciteit kan op verschillende manieren worden vastgesteld, bij voorbeeld door immunosuppressie en/of verhoging van de gevoeligheid van het immuunsysteem welke hypersensitiviteit of geïnduceerde auto-immuniteit tot gevolg heeft. De toxiciteitstest met herhaalde toediening (methode B.7) houdt onder meer het vaststellen van immunotoxische effecten in. De methode moet het mogelijk maken stoffen te identificeren die een immunotoxische werking kunnen hebben, waarna verder, diepgaand onderzoek naar dit aspect nodig kan zijn.

B.VII Toxicokinetica

Toxicokinetisch onderzoek is een ondersteuning bij de interpretatie en evaluatie van toxiciteitsgegevens. Dit onderzoek dient om licht te werpen op bepaalde aspecten van de toxiciteit van de onderzochte stoffen en de resultaten kunnen worden gebruikt bij het opzetten van voortgezet toxiciteitsonderzoek. Het is niet de bedoeling dat in alle gevallen alle parameters worden bepaald. Zelden zal de gehele reeks toxicokinetische onderzoeken (absorptie, excretie, distributie en metabolisme) nodig zijn. Bij bepaalde verbindingen kan een andere volgorde de voorkeur verdienen, of kan worden volstaan met een onderzoek waarbij één enkele dosis wordt toegediend (methode B.36).

Informatie over de chemische structuur (SAR) en fysisch-chemische eigenschappen kan ook een indicatie geven over de absorptiekenmerken langs de voorgestelde toedieningsweg en over de te verwachten metabolische reacties en de verdeling over de weefsels. Over de toxicokinetische parameters kan ook informatie beschikbaar zijn door voorafgaand toxiciteitsonderzoek en toxicokinetisch onderzoek.

C. KARAKTERISERING VAN DE TESTSTOF

De samenstelling van de teststof, met inbegrip van de voornaamste verontreinigingen, en de relevante fysisch-chemische eigenschappen, waaronder de stabiliteit, moeten vóór de aanvang van ieder toxiciteitsonderzoek bekend zijn.

De fysisch-chemische eigenschappen van de teststof leveren belangrijke informatie over de keuze van de manier van toedienen, de opzet van ieder afzonderlijk onderzoek en het hanteren en bewaren van de teststof.

Alvorens het onderzoek wordt aangevat, moet een analytische methode voor de kwalitatieve en kwantitatieve bepaling van de teststof (zo mogelijk met inbegrip van de voornaamste verontreinigingen) in het toedieningsmedium en in het biologisch materiaal ontwikkeld worden.

Alle gegevens met betrekking tot de identificatie, de fysisch-chemische eigenschappen, de zuiverheid en het gedrag van de teststof moeten in het onderzoeksrapport worden opgenomen.

D. VERZORGING VAN DE DIEREN

Bij toxiciteitstests zijn een stringente bewaking van de levensomstandigheden en een goede verzorging van de dieren een eerste vereiste.

i. Huisvesting

De leefomstandigheden in de kamers of ruimten waar de proefdieren zijn ondergebracht, moeten geschikt zijn voor het soort proefdier. Voor ratten, muizen en cavia's is een kamertemperatuur van $22^{\circ} \text{C} \pm 3^{\circ} \text{C}$ en een relatieve luchtvochtigheid van 30-70 % geschikt; voor konijnen moet de temperatuur $20^{\circ} \text{C} \pm 3^{\circ} \text{C}$ en de relatieve luchtvochtigheid 30-70 % bedragen.

Sommige experimentele technieken zijn bijzonder gevoelig voor temperatuureffecten; in dergelijke gevallen wordt in de beschrijving van de onderzoeksmethode nader ingegaan op de correcte proefomstandigheden. Bij ieder onderzoek naar toxische effecten moeten de temperatuur en de vochtigheidsgraad worden gecontroleerd, opgetekend en in het eindverslag van de studie worden opgenomen.

Er moet gebruik worden gemaakt van kunstlicht met afwisselend twaalf uur licht - twaalf uur duisternis. Nadere gegevens over de verlichting moeten worden opgetekend en in het eindverslag worden opgenomen.

Tenzij anders bij de methode vermeld, worden de dieren hetzij afzonderlijk, hetzij in kleine groepen van hetzelfde geslacht gehuisvest. In het laatste geval mogen per kooi niet meer dan vijf dieren worden gehuisvest.

Het is belangrijk om in verslagen over dierproeven steeds te vermelden welk soort kooien is gebruikt en hoeveel dieren tijdens de blootstelling aan de chemische stof en tijdens latere waarnemingsperioden in iedere kooi waren gehuisvest.

ii. Voeding

Bij de samenstelling van het voedsel moet worden voldaan aan alle eisen die de proefdiersoorten aan hun voeding stellen. Indien chemische stoffen via de voeding aan de dieren worden toegediend, kan de voedingswaarde door interactie tussen de stof en een bestanddeel van de voeding verminderd worden. Bij het interpreteren van de resultaten dient rekening te worden gehouden met de mogelijkheid van dergelijke reacties. Er kan gebruik worden gemaakt van gebruikelijk laboratoriumvoeder met een onbeperkte hoeveelheid drinkwater. De keuze van het voedsel kan mede worden bepaald door de noodzaak de teststof, wanneer die via het voedsel wordt toegediend, op een passende wijze daarmee te vermengen.

Onzuiverheden in de voeding waarvan bekend is dat ze de toxiciteit beïnvloeden, mogen niet in werkzame concentraties voorkomen.

E. WELZIJN VAN DE DIEREN

Bij het uitwerken van de testmethoden werd extra aandacht besteed aan dierenwelzijn. Enkele voorbeelden worden hieronder samengevat, maar deze lijst is niet volledig. De exacte formulering en/of voorwaarden dienen te worden nagelezen in de tekst van de methoden :

- Voor de bepaling van de acute orale toxiciteit moeten twee alternatieve methoden, de "vaste-dosismethode" en de "bepaling van de acute-toxiciteitsklasse" worden overwogen. Bij de eerste methode wordt niet uitgegaan van de dood als specifiek criterium en bij deze methode worden minder proefdieren gebruikt. Bij de tweede methode wordt gemiddeld 70 % minder proefdieren gebruikt dan bij methode B.1 ter bepaling van de acute orale toxiciteit. Beide alternatieve methoden veroorzaken minder ongerief en pijn dan de klassieke methode.
- Het aantal proefdieren is teruggebracht tot het wetenschappelijk aanvaardbare minimum : slechts vijf proefdieren van hetzelfde geslacht worden per dosisniveau getest voor de methoden B.1 en B.3; slechts tien dieren (en maar vijf voor de negatieve controlegroep) worden gebruikt voor de bepaling van de sensibilisering van de huid door de maximalisatietest voor cavia's (methode B.6); het aantal dieren dat benodigd is voor de positieve controle bij het testen van de mutageniteit in vivo wordt ook verminderd (methoden B.11 en B.12).
- Ongerief en pijn van de dieren tijdens de proef worden tot een minimum teruggebracht; het kan nodig zijn dieren die ernstige, blijvende verschijnselen van lijden en pijn vertonen op humane wijze af te maken; het doseren van teststoffen volgens een methode waarvan bekend is dat zij veel lijden en pijn

veroorzaken wegens de corrosieve of irriterende eigenschappen van de stof, is niet vereist (methoden B.1, B.2 en B.3).

- Het testen met irrelevant hoge doses wordt vermeden door het invoeren van limietproeven, niet alleen bij de tests op acute toxiciteit (methoden B.1, B.2 en B.3) maar ook bij de in vivo tests op mutageniteit (methoden B.11 en B.12).
- Een strategie voor irritatietests maakt het thans mogelijk een test achterwege te laten of de studie te beperken tot een enkel dier wanneer voldoende wetenschappelijke gegevens voorhanden zijn.

Deze wetenschappelijke gegevens kunnen worden gebaseerd op de fysisch-chemische eigenschappen van de stof, de resultaten van andere reeds uitgevoerde proeven of de resultaten van goed gevalideerde in vitro proeven. Indien bij voorbeeld bij het uitvoeren van een onderzoek naar acute toxiciteit bij toediening via de huid geen huidirritatie werd waargenomen bij de limietdosis van de te onderzoeken stof (methode B.3), kan verder testen op huidirritatie (methode B.4) overbodig zijn; stoffen die duidelijk bijtende of ernstige huidirriterende eigenschappen vertonen bij het onderzoek naar huidirritatie (methode B.4), dienen niet verder te worden getest op oogirritatie (methode B.5).

F. ALTERNATIEVE TESTEN

Een wetenschappelijke doelstelling van de Europese Unie is het ontwikkelen en valideren van alternatieve technieken die dezelfde hoeveelheid informatie opleveren als de huidige dierproeven, maar waarbij minder proefdieren worden gebruikt, die minder lijden veroorzaken of die het gebruik van dieren volledig overbodig maken.

Naarmate dergelijke methoden ter beschikking komen, moet het gebruik ervan waar mogelijk worden overwogen voor de risicobeoordeling en de daaruit voortvloeiende classificatie en etikettering ten aanzien van de intrinsieke risico's.

G. EVALUATIE EN INTERPRETATIE

Bij de evaluatie en interpretatie van de testresultaten moet rekening worden gehouden met de beperkingen ten aanzien van de mate waarin de resultaten van dierproeven en in vitro tests kunnen worden geëxtrapoleerd naar de mens. Daarom kunnen aanwijzingen voor schadelijke effecten bij de mens, indien beschikbaar, gebruikt worden als bevestiging van de testresultaten.

Deze resultaten kunnen worden gebruikt voor de classificatie en etikettering van nieuwe en bestaande chemische stoffen met betrekking tot hun effecten op de menselijke gezondheid op basis van de intrinsieke eigenschappen die met deze methoden geïdentificeerd en gekwantificeerd worden. De criteria voor classificatie en etikettering in de desbetreffende bijlage IV hebben mede betrekking op de "end-points" van de testprotocollen die bij deze testmethoden horen.

Deze resultaten kunnen ook worden gebruikt voor onderzoek gericht op de risicobeoordeling van nieuwe en bestaande chemische stoffen. De voor deze doeleinden gepaste teststrategieën zijn aangegeven in de desbetreffende documenten met richtsnoeren.

H. LITERATUUR

De meeste van deze methoden zijn ontwikkeld binnen het kader van het OESO-programma inzake richtsnoeren voor het testen; zij moeten worden toegepast overeenkomstig de beginselen van "goede laboratoriumpraktijken", om zoveel mogelijk te komen tot "onderlinge acceptatie van gegevens".

Verdere informatie kan worden gevonden in de referenties die te vinden zijn in de OESO-richtsnoeren en in relevante literatuur die elders is gepubliceerd. "

Gezien om te worden gevoegd bij Ons besluit van 14 december 1998.

ALBERT

Van Koningswege :

De Minister van Volksgezondheid,
M. COLLA

De Minister van Tewerkstelling en Arbeid,
Mevr. M. SMET

De Staatssecretaris voor Leefmilieu,
J. PEETERS

Voor vragen en/of opmerkingen over EMIS kunt u mailen naar emis@vito.be

Copyright © [VITO](http://www.vito.be) 18/01/1999

Ontwerp [EMIS](http://www.emis.vito.be).