

**Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava**

**Fakulta bezpečnostního inženýrství**

**Katedra požární ochrany a ochrany obyvatelstva**

**Kritická analýza probit funkcí používaných v rámci  
prevence závažných havárií.**

**Student:**

**Bc. Jakub Dlabka**

**Vedoucí diplomové práce:**

**prof. RNDr. Pavel Danihelka, CSc.**

**Studijní obor:**

**Bezpečnostní plánování**

**Datum zadání diplomové práce:**

**30. listopad 2009**

**Termín odevzdání diplomové práce:**

**30. duben 2010**

**Místopřísežné prohlášení:**

„Místopřísežně prohlašuji, že jsem celou diplomovou práci vypracoval samostatně.“

V Ostravě dne.....

podpis.....

Bc. Jakub Dlabka

**Poděkování**

„Touto cestou děkuji vedoucímu své práce prof. RNDr. Pavlu Danihelkovi CSc. za poskytnutí cenných informací a rad při tvorbě této diplomové práce. Zároveň chci poděkovat Ing. Barboře Baudišové, za její neocenitelnou pomoc a podporu.“

Jakub Dlabka

## **Anotace**

DLABKA, J.: *Kritická analýza probit funkcí používaných v rámci prevence závažných havárií*. VŠB-TU Ostrava, 2010.

V současnosti patří probitové funkce mezi jedny z nepoužívanějších nástrojů pro zhodnocení toxických účinku v rámci analýzy a hodnocení rizik. Použití tohoto nástroje v sobě zahrnuje určité nejistoty, které mohou do jisté míry zkreslovat výslednou hranici účinku. V rámci této diplomové práce je popsán teoretický základ nutný pro pochopení probitové analýzy. Dále jsou rozebrány přístupy vybraných institucí, které se zabývají probitovou analýzou pro účely analýzy rizik havarijních událostí. Zároveň jsou diskutovány nejistoty vztahující se k použití probitové funkce.

**Klíčová slova:** Probitová funkce, probitová analýza, faktor nejistoty, analýza rizik, prevence závažných havárií, havarijní plánování

## **Annotation**

DLABKA, J.: *Critical analysis of probit functions used in the framework of major accident prevention*. VŠB-TU Ostrava, 2010.

Nowadays probit functions belong to one of the most frequently used tool for evaluation of toxic effect in terms of risk analysis. Use of this tool includes some specific uncertainties, that can to a certain extend distort the final threshold limit. In this work the theoretical base necessary for understanding of probit analysis is described. There are also mentioned approaches of other institutions concerned with probit analysis for risk assessment of accidental events purposes. Some uncertainties related to use of probit function are discussed as well.

**Key words:** Probit function, probit analysis, uncertainty factor, risk analysis, major accident prevention, emergency planning.

## Obsah

1	Úvod.....	6
1.1	Přehled o současném stavu řešené problematiky .....	9
2	Teoretická část.....	12
2.1	Zpracování experimentálních dat .....	12
2.1.1	Vztah dávka-účinek .....	12
2.1.2	Dávkový metamer .....	14
2.1.3	Parametry .....	15
2.1.4	Střední efektivní dávka.....	15
2.1.5	Normované normální rozdělení .....	17
2.1.6	Zavedení termínu Probit .....	18
2.1.7	Výpočet regresních koeficientů.....	20
2.1.8	Metoda maximální věrohodnosti .....	20
2.1.9	Probitová funkce s více parametry .....	21
2.2	Výpočet probit funkce pro toxicitu .....	22
2.2.1	Předpoklady pro učení konstant probitových funkcí pro člověka .....	23
2.2.2	Výpočet konstant probitových funkcí pro člověka .....	25
2.3	Vybrané přístupy k transformaci zvířecích dat na člověka v oblasti akutní toxicity	28
2.3.1	Stanovení extrapolčního faktoru $f_d$ pro lokálně i systematicky působící látky.	28
2.3.2	Evropský přístup (ACUTEX).....	29
2.3.3	Faktory nejistoty používané při vývoji AEGL.....	30
2.3.4	Americký přístup k určení prahové hodnoty z experimentálních dat .....	32
2.4	Probitová funkce pro účinky požáru a výbuchu.....	32
2.4.1	Probitová funkce pro účinky požáru .....	33
2.4.2	Probitová funkce pro účinky výbuchu.....	33
3	Praktická část.....	35
3.1	Srovnání hodnot probitových funkcí.....	35
3.1.1	Aplikační vymezení řešené problematiky .....	35
3.1.2	Srovnání s limity akutní toxicity. ....	38
3.1.3	Důvody rozdílnosti jednotlivých hodnot .....	40
3.2	Případové studie výpočtu probitových konstant .....	41
3.2.1	Probitová analýza experimentálních dat .....	42

3.2.2	Výpočet probitových konstant pro čpavek.....	46
3.2.3	Popis jiných způsobů výpočtu probitových konstant.....	48
4	Diskuze.....	49
5	Závěr.....	53
6	Seznam použité literatury .....	54

## **Seznam zkratek**

LC <sub>50</sub>	Střední letální koncentrace
ED <sub>50</sub>	Střední efektivní dávka
AEGL	Acute exposure guideline limits – směrné úrovně akutní toxicity
LBW	Levensbedreigende waarde - život ohrožující hodnota
VnHP	Vnější havarijní plán
TGD	Technical Guidance Document - technický podpůrný dokument
RIVM	Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu - nizozemský národní institut pro veřejné zdraví a životní prostředí
TNO	Niederländische Organisation für angewandte naturwissen-schaftliche Forschung - nizozemská organizace pro aplikovaný přírodovědecký výzkum
AHR	Analýza a hodnocení rizik
PZH	Prevence závažných havárií
CPQRA	Chemical Process Quantitative Risk Analysis - kvantitativní analýza rizik chemických procesů
CCPS	Centre for Chemical Process Safety - centrum pro bezpečnost chemických procesů
AICHE	Americký institut pro bezpečnost chemických procesů
NOAEL	No-observed-adverse-effect level - nejvyšší hodnota koncentrace, která u sledované populace ještě nezpůsobí negativní efekt
LOAEL	Lowest observed-adverse-effect level - nejnižší hodnota koncentrace, která u sledované populace způsobí negativní efekt
BMC	Benchmark concentration
SAS	Statistical Analysis System
SPSS	Statistical Package for the Social Sciences
BMDS	Benchmark Dose Software
95 % CL	95 % hranice spolehlivosti (confidence lines)

## **Definice**

**Mimořádná událost** - Mimořádnou událostí škodlivé působení sil a jevů vyvolaných činností člověka, přírodními vlivy, a také havárie, které ohrožují život, zdraví, majetek nebo životní prostředí a vyžadují provedení záchranných a likvidačních prací. [19]

**Závažná havárie** - Mimořádná, částečně nebo zcela neovladatelná, časově a prostorově ohraničená událost, například závažný únik, požár nebo výbuch, která vznikla nebo jejíž vznik bezprostředně hrozí v souvislosti s užíváním objektu nebo zařízení, v němž je nebezpečná látka vyráběna, zpracovávána, používána, přepravována nebo skladována, a vedoucí k vážnému ohrožení nebo k vážnému dopadu na životy a zdraví lidí, hospodářských zvířat a životní prostředí nebo k újmě na majetku. [9]

**Nebezpečná látka** - Vybraná nebezpečná chemická látka nebo chemický přípravek, uvedené v příloze č. 1 k zákonu 59/2006 v části 1 tabulce I nebo splňující kritéria stanovená v příloze č. 1 k tomuto zákonu v části 1 tabulce II a přítomné v objektu nebo zařízení jako surovina, výrobek, vedlejší produkt, zbytek nebo meziprodukt, včetně těch látek, u kterých se dá důvodně předpokládat, že mohou vzniknout v případě havárie. [9]

**RD<sub>50</sub>** - Reduced minute volume - Koncentrace způsobující snížení rychlosti dýchání o 50%.

**Kvantální** – V případě účinku je kvantální jev ten, který buď nastane, nebo nenastane. Na rozdíl od případu kdy může nastávat stupňovitě, nebo nastat jen částečně, umožňuje kvantální účinek jen dva druhy výstupu – vše nebo nic.

**AEGL-3** - Koncentrace nebezpečné látky ve vzduchu (vyjádřená v ppm nebo v mg/m<sup>3</sup>), nad kterou se předpokládá, že běžná populace, včetně vnímavých jedinců, může zakusit zdravotní účinky ohrožující život nebo může dojít k smrti. Limita akutní toxicity vyvíjená v USA. [13]

**LBW** - Levensbedreigende waarde (život ohrožující hodnota) – hodnota koncentrace látky, jejíž překročení se po jednodinové expozici může během několika dnů u zasažených jedinců projevit smrtí či život ohrožujícími stavy. Limita akutní toxicity vyvíjená v Nizozemsku. [16]

**Metametr** - Veličina odvozená z pozorování, nezávislá na všech parametrech, která transformuje velikost pozorovaného jevu. Metametr je obvykle použit k zjednodušení vyjádření nebo analýzy vztahů dávka - účinek.

**Probitová analýza** - Statistická metoda, pomocí níž je vyjádřen vztah mezi účinkem a podnětem. V analýze rizik při hodnocení dopadů událostí se vypracuje pravděpodobnostní



vztah mezi logaritmem velikosti dávky z události (např. následky jako je toxicita, tepelné záření, přetlak) a účinkem v procentu exponované populace (např. úmrtí). [12]

**Probitová funkce** - Druh modelové závislosti dávka - účinek vyjádřený rovnicí. V analýze rizika se používá pro odhad fyziologických následků při působení toxických látek, tepelného záření z požárů, přetlaku při explozi a letících fragmentů. [12]

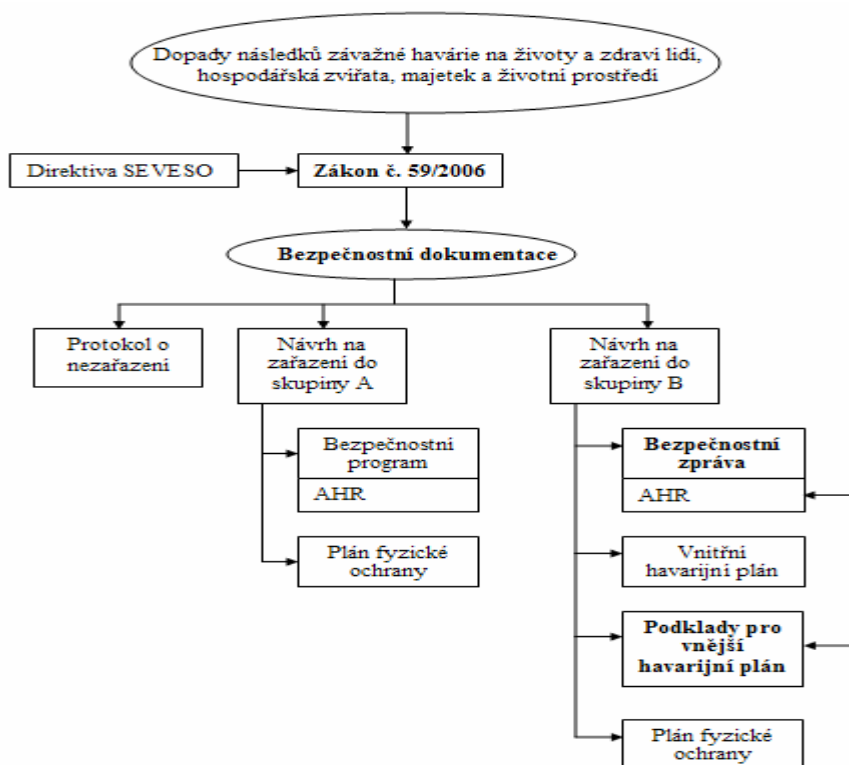
# 1 Úvod

Prevence závažných havárií (dále jen PZH) patří v současnosti mezi jeden z významných pilířů při ochraně obyvatelstva. Tato oblast je v České republice legislativně upravena zákonem č. 59/2006 Sb., o prevenci závažných havárií [9] (dále jen zákon PZH), který vychází z Směrnice Rady 2003/105/EC [11].

Zákon PZH, za pomoci bezpečnostní dokumentace, stanovuje závazné postupy a povinnosti, které slouží k připravenosti na mimořádné události, například únik, požár nebo výbuch, spojené se skladováním a zacházením s nebezpečnou látkou.

V rámci tohoto zákona jsou průmyslové podniky rozděleny dle množství vybraných nebezpečných látek do skupin A a B. Tyto skupiny zpracovávají různé úrovně bezpečnostní dokumentace (viz obrázek 1), přičemž na skupinu B jsou kladeny daleko větší požadavky než na skupinu A. Mezi dokumentaci, kterou jsou podniky skupiny B povinny zpracovávat, patří bezpečnostní zpráva, vnitřní havarijní plán, podklady k vnějšímu havarijnímu plánu (dále jen VnHP) a plán fyzické ochrany.

Součástí bezpečnostní zprávy je mimo jiné analýza a hodnocení rizik (dále jen AHR). Účelem AHR je identifikace a zhodnocení rizik, které mohou vést k ohrožení zdraví a životů osob, hospodářských zvířat, životního prostředí a majetku. AHR současně slouží jako podklad ke zpracování vnitřního a vnějšího havarijního plánu.

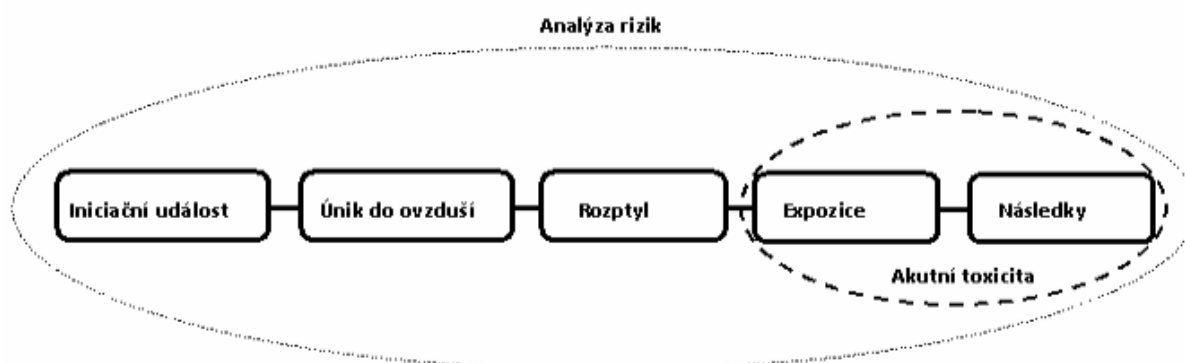


Obrázek 1: Schéma bezpečnostní dokumentace

Klíčovým dokumentem pro ochranu obyvatelstva před účinky havárií, způsobenými vybranými nebezpečnými chemickými látkami, je VnHP. Součástí VnHP je stanovení zóny dosahu předpokládaných účinků. V rámci České republiky je vymezení zóny legislativně řešeno vyhláškou č. 103/2006 Sb. o stanovení zásad pro vymezení zóny havarijního plánování [17]. Samotná vyhláška vychází z metody IAEA-TECDOC-727 [18]. Vhodnost použití této vyhlášky ke stanovování zón byla v odborných kruzích a několika pracích [14,15] zpochybněna. Proto je na místě zvažovat i jiné postupy, které mohou sloužit ke stanovování těchto zón.

Jedním z možných přístupů je použití havarijních scénářů z AHR. Problém však nastává v nejistotách spojených s jednotlivými kroky prováděnými při AHR, které ovlivňují přesnost a správnost získaných výsledků. Tyto nejistoty jsou různým způsobem závislé také na fyzikálních vlastnostech dané látky (hořlavost, výbušnost, toxicita). Toxické látky jsou z hlediska dosahu účinku považovány za jedny z nejnebezpečnějších pro obyvatelstvo, proto se ve své práci převážně zaměřuji především na látky s toxickým účinkem. V případě ocenění následků na zdraví člověka v důsledku úniku toxické látky se jedná o nejistoty spojené s (viz obrázek 2):

- určením iniciační události (např. zda se bude jednat o únik z potrubí nebo ze zásobníků),
- únikem do ovzduší (např. dojde k úniku celého množství nebezpečné látky, nebo k úniku jen části z celkového množství),
- rozptylem v atmosféře (např. jaké budou v daném okamžiku úniku meteorologické podmínky),
- expozicí (např. jaká koncentrace a v jakém časovém úseku bude působit na obyvatelstvo)
- určením následků (např. vztahem mezi dávkou a účinkem toxické látky) [22].



Obrázek 2: Postup při hodnocení následků na zdraví člověka v důsledku úniku toxické látky do ovzduší [22]

Všechny tyto nejistoty ovlivňují celkový výsledek AHR, proto je posouzení celkového stavu AHR komplikované a vyžaduje řešení celé problematiky po částech. Jednou z těchto částí je akutní toxicita. V současnosti se akutní toxicita v rámci AHR řeší pomocí limitů akutní toxicity, nebo probitové funkce<sup>1</sup>.

Limit akutní toxicity je obecně chápán jako hodnota ohrožující koncentrace látky, pod kterou není pozorován nebo se neočekává, že se objeví definovaný účinek [20,21,22]. Probitová funkce v rámci AHR je chápána jako výpočetní model pravděpodobnostního rozložení úmrtí v závislosti na dané expozici. Limity akutní toxicity jsou řešeny v rámci prací [20,21,22]. Proto je tato práce zaměřena na další nástroj používané při zhodnocení akutní toxicity v AHR, tj. probitová funkce.

Probitová funkce patří v České republice mezi nejpoužívanější nástroje při stanovení AHR [21]. Problém nastává, když k aplikaci těchto funkcí, dochází bez pochopení širších souvislostí a principu funkčnosti tohoto modelu.

Na vypovídací schopnost takto získaných výsledků se potom nelze zcela spolehnout. Následně problémy nastávají při specifikaci následků, které je třeba znát při havarijním úniku, jako je například smrt, nevratné účinky, neschopnost úniku. Z výše uvedených důvodů je tato práce zaměřená na pochopení principů probitové funkce a zjištění nejistot, které je třeba při používání této funkce mít na zřeteli.

---

<sup>1</sup> Z důvodů nejednotnosti terminologie [12,24], autor zvolil a bude používat v celé diplomové práci pojem probitová funkce.

## **1.1 Přehled o současném stavu řešené problematiky**

### **Chronologický vývoj probit funkce**

V roce 1933 přišel sir John Henry Gaddum, britský farmakolog s návrhem zobrazit vztah dávka - účinek pomocí normovaného normálního rozdělení s použitím logaritmické stupnice. V roce 1934 publikoval americký biolog Chester Bliss článek v časopise Nature, ve kterém zavedl pro zobrazení vztahu dávka - účinek na pesticidech metamer probit. Vycházel přitom z metametru, použitým v metodě navržené Gaddumem, jen upraveným tak, aby umožňoval tehdejší vědcům v oblasti biologie jednoduchý způsob zobrazování tohoto vztahu. Jeho práci v roce 1935 doplnil anglický statistik a biolog Sir Ronald Aylmer Fisher o rychlou metodu výpočtu maximálně věrohodných odhadů.

Jejich výsledky a další informace týkající se nově vzniklé metody výpočtu shrnul v roce 1941 britský profesor statistiky David John Finney v knize „Probit analysis“, která byla naposledy vydána roku 1971. Probitová analýza se postupně stala metodou, která se neomezovala na použití pouze pro toxické účinky pesticidů, ale našla své uplatnění v mnoha dalších oborech, především v ekonomii. V oblasti ochrany obyvatelstva před účinky dopadů havárií během 80. a 90. let byly stanovovány různé formy probitových rovnic a různé hodnoty konstant. Tyto hodnoty byly publikovány například v literatuře [7,10].

Se systematickým přístupem ke stanovování hodnot probitových funkcí pro výpočet účinků při zasažení populace únikem nebezpečné chemické látky přišla Niederländische Organisation für angewandte naturwissen-schaftliche Forschung - Nizozemská organizace pro aplikovaný přírodovědecký výzkum (dále jen TNO). Podstatným přínosem byly také práce Willa ten Bergeho [25,26,27], který se dlouhodobě zabýval probitovými funkcemi.

Jejich činnost vyvrcholila v roce 1989 vydáním metody pro stanovení probitových konstant. Metoda byla vydána formou tzv. Green Book [23] a obsahovala probitové konstanty pro 22 vybraných nebezpečných chemických látek. V roce 1995 provedl Simon Schubach [5] srovnání konstant vytvořených TNO a konstant publikovaných v rámci literatury [10]. Závěry tohoto článku jsou diskutovány v kapitole 3.1.1.

Green Book byla několikrát novelizována, naposledy v roce 2005. V roce 2008 byl, již v rámci Rijksinstituut voor Volksgezondheid en Milieu - Nizozemský národního institutu pro veřejné zdraví a životní prostředí (dále jen RIVM), započat vývoj konstant dalších probitových funkcí. V oblasti probitové analýzy bylo publikováno velké množství článků a prací, ovšem praktický význam pro probitové funkce používané pro hodnocení dopadů havárií má jen malá část z nich.

## **Přehled klíčových publikací**

V oblasti problematiky probitové analýzy bylo publikováno velké množství dalších prací. Přehled níže uvedených publikací je zaměřen převážně na klíčové práce ve zkoumané oblasti.

### **FINNEY D.J. (1971) *Probit Analysis*. Cambridge University Press, Cambridge, 3rd ed.**

Knihy popisuje oblast statistických metod široce používaných v souvislosti s biologickou analýzou insekticidů, fungicidů, léků, vitamínů, atd. Standardizuje výpočty a terminologii a usnadňuje jejich použití nejen pro biology bez odborných znalostí, naznačuje základní matematické teorie. V knize jsou použity také vlastní výsledky autora v oblasti zjišťování vztahů dávka-účinek pro působení insekticidů.

### **BERGE, WF ten. *Concentration-time response in acute inhalation toxicity* [online]. 2006 [cit. 2010-02-10]. Dostupný z WWW: <<http://home.wxs.nl/~wtberge/doseresp.html>>.**

Internetová stránka W.F. ten Bergeho. Nabízí volně stažitelný program DoseRespBeta2006 s podrobným manuálem. Program DoseRespBeta2006 slouží k regresní analýze dat z toxikologických testů a výpočtu koeficientů probit funkcí. Zabývá se pouze extrapolací dat z pokusů na zvířatech.

### **MINISTERIE VAN VROM. *Publicatiereeks Gevaarlijke Stoffen 1.: Methoden voor het bepalen van mogelijke schade ('Geen book')*, 2005.**

Část 4 – poškození způsobené akutní (inhalační) intoxikací se zabývá především deskripcí odvození probit funkce pro akutní toxickou expozici a stanovení jednotlivých konstant. V roce 1989 TNO publikovala první verzi metodiky zabývající se výpočtem možných poškození osob a budov plynoucích z úniku nebezpečných látek. Metodika byla popsána v dokumentu CPR16E, označované také jako Green Book. Od roku 1989 byla několikrát aktualizována (naposledy v roce 2005, v současnosti se očekává aktualizace – 2010). Původní verze této metodiky byla dostupná v angličtině. Aktualizované podoby jsou dostupné pouze v nizozemštině. Od roku 2005 je dokument CPR16E označován jako PGS 1.

Publikace má více částí, kdy v každé z nich se zabývá různým působením nebezpečných látek.

***Guidelines for Chemical Process Quantitative Risk Analysis - CPQRA, Center for Chemical Process Safety of the American Institute of Chemical Engineers, New York, 1989, ISBN 0-8169-0402-2***

Příručka CPQRA je používána k identifikaci havarijních scénářů a k hodnocení jejich rizik. Tato rizika jsou definována pravděpodobností poruch, jejich různými důsledky a možným dopadem těchto důsledků. Tato příručka je neocenitelná v případě, že kvalitativní analýza nemůže poskytnout adekvátní stupeň porozumění a zároveň je třeba více informací pro řízení rizik. Tato technika poskytuje prostředky, jak hodnotit zdroje rizika a alternativní strategie k redukci rizika, dále umožňuje identifikovat oblasti pro nejefektivnější snížení rizika. Jsou zde uvedené konstanty probitových funkcí vyvinuté různými institucemi.

## 2 Teoretická část

V rámci této kapitoly jsou rozebrány základní teoretické poznatky sloužící k pochopení způsobu stanovení konstant probitové funkce. Pro lepší porozumění dané problematice je třeba seznámit se nejprve se způsobem modelování vztahu dávka – účinek.

### 2.1 Zpracování experimentálních dat

#### 2.1.1 Vztah dávka - účinek [2]

V případech, kdy se zabýváme vztahem dávka – účinek, je nutné zvážit dva parametry:

- podnět (např. toxické vlastnosti nebezpečné látky, vitamín, lék, fyzikální veličina jako tepelný tok, síla, přetlak);
- a subjekt (např. zvíře, rostlina, lidský dobrovolník, kovová deska).

Podnět je aplikován na subjekt v určité dávce, v intenzitě specifikované jednotkami koncentrace, váhy, času nebo pomocí jiné vhodné jednotky a za určitých podmínek, které by měli být v rámci možností co nejvíce kontrolovány a zaznamenány. Výsledkem je, že u subjektu dojde k účinku – např. růst, změna barvy, známky poškození. Různé druhy podnětů mohou být porovnávány v závislosti na velikosti účinku, kterou vyvolají nebo, jak je běžnější a užitečnější, v podmínkách intenzity, která způsobí srovnatelný účinek.

Pokud je charakteristický účinek kvantální (tzn., že daný jev buď nastane, nebo nenastane), její výskyt nebo absence bude záviset na intenzitě podnětu. Pro každý subjekt, v kontrolovaných podmínkách, existuje určitá úroveň intenzity, pod kterou nebude pozorován žádný účinek nebo se neočekává, že se objeví. Taková hodnota je nejčastěji označována jako prahová nebo limitní, ale v odborných kruzích je přijímán termín tolerance.

Hodnota tolerance je různá pro každý subjekt (např. člověka) v dané populaci. Je-li koncept opakování testů na jedincích plnohodnotný, tolerance se bude měnit případ od případu, v závislosti na nekontrolovatelných vnitřních i vnějších podmínkách. Z výše uvedených důvodů vyžaduje diskuze o kvantálních datech účinku rozpoznání distribuce tolerance v celé studované populaci. Pokud je dávka nebo intenzita stimulu vyjádřena jako  $z$ , pak distribuce tolerance může být vyjádřena jako:

$$dP = f(z)dz \quad (1)$$

Tato rovnice vyjadřuje podíl ( $dP$ ) z celé populace, jejíž tolerance leží mezi  $z$  a  $z+dz$  v čase testu, kde  $dz$  reprezentuje malý interval na ose dávky. Faktor vztahující  $dP$  k délce intervalu je



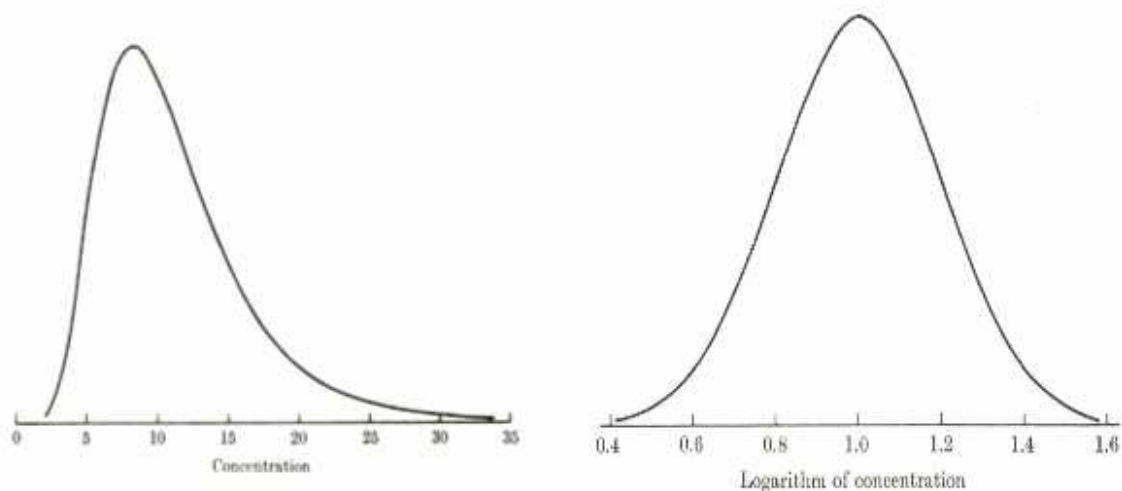
frekvenční funkce  $f(z)$  jednoznačně určená pro každou možnou hodnotu  $z$ . Pokud je dána dávka  $z_0$ , objeví se účinek u každého jedince, jehož tolerance je menší než  $z_0$ . Tato část populace se označuje jako  $P$  kde:

$$P = \int_0^{z_0} f(z) dz \quad (2)$$

Rozsah dávky je v tomto případě předpokládán jako hodnota veličiny, která může být uvažována v rozsahu od 0 do  $+\infty$ . Účinek je pro velmi vysoké dávky jistý, takže potom platí:

$$P = \int_0^{\infty} f(z) dz = 1 \quad (3)$$

Rozložení četnosti tolerance, jak je zobrazené na dekadické stupnici, jak je zřejmé z následujícího obrázku, je obvykle značně zešikmené. Proto se pro zjednodušení stupnice transformuje na logaritmickou stupnici. Rozložení tolerance potom přibližně odpovídá normálnímu (Gaussovu) rozdělení (viz obrázek 3).



**Obrázek 3: Vyjádření změny tolerance v závislosti na koncentraci – transformace stupnice [2]**

Náhodná proměnná je považována za normální, když nabývá hodnoty od  $-\infty$  do  $+\infty$ , s četnostmi danými pevným matematickým pravidlem. Logaritmus četnosti je potom v jakékoli vzdálenosti  $d$  od středu distribuce menší než logaritmus četnosti ve středu o velikost úměrnou  $d^2$ . Takové rozdělení je potom symetrické, s největší četností ve středu. Ačkoli rozpětí je neohraničené, frekvence výskytu mimořádně malých hodnot je ve velmi značné vzdálenosti od středu, jelikož hodnotě vysokého záporného logaritmu odpovídají jen velmi malá čísla. Například při testu insekticidních přípravků je rozdělení distribuce tolerance zřídka symetrické, jelikož několik jedinců s extrémně vysokou tolerancí může způsobit velmi protažený „ocas“ funkce. Řešení tohoto problému je převedení na normální (Gaussovu) rozdělení. Normalizování může být nejčastěji provedené vyjádřením tolerance v hodnotách

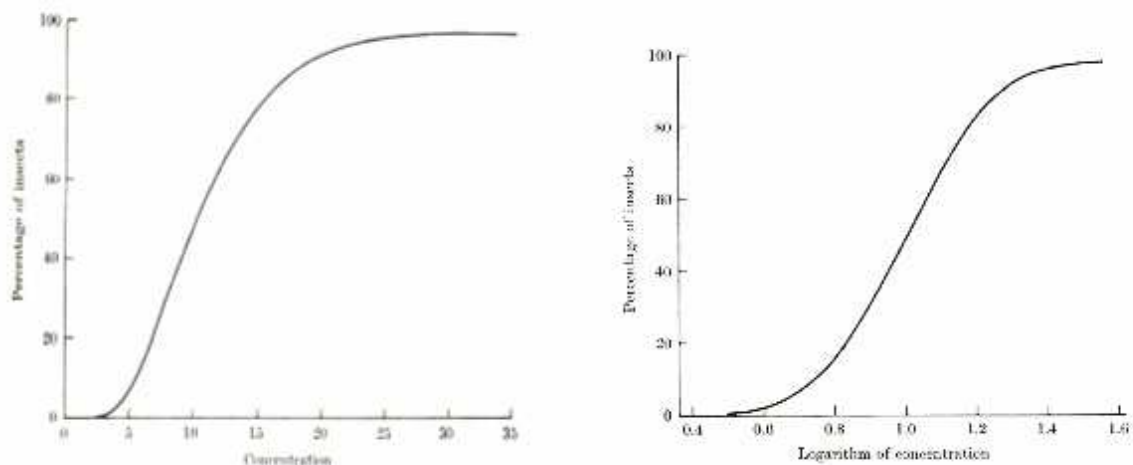
logaritmů koncentrací, místo jejich absolutních hodnot. Taková transformace je součástí běžné praxe. Normální rozdělení představuje ve statistice důležitou roli z mnoha důvodů. Například proto, že rozložení četnosti hodnot a dalších odvozených množství lze aproximovat, dokonce i když jednotlivá pozorování vykazují rozdílné výsledky.[2]

### 2.1.2 Dávkový metamer [2]

Transformovaná stupnice dávky, na které tolerance normálně distribuována je označována jako metametrická stupnice, a velikost dávky je potom dávkový metamer. Pro tento metamer je používán symbol  $x$ . Jeho definice je  $x = \ln z$ . Je nepodstatné, jestli je použit dekadický nebo přirozený logaritmus, protože hodnotu lze jednoduše přepočítat s použitím vztahu  $\log z = 0.43429 \ln z$ .

Protože teorie lépe zachází s přirozenými logaritmy, a ty jsou také v praxi častěji používány, budeme používat logaritmy o přirozeném základu. Tam kde nehrozí riziko záměny veličiny  $x$  za jinou veličinu, bude se vždy veličina  $x$  vztahovat k dávce. V jakékoli situaci, pro kterou můžeme definovat toleranci, bude každý subjekt, jehož tolerance je menší než uvedená hodnota  $x$ , reagovat na dávku. Z tohoto důvodu má graf procentuální reakce na danou dávku tvar neustále rostoucí křivky.

Míra zvýšení četnosti reakce na jednotku zvýšení dávky je velmi malá v oblastech okolo nuly a sta procent, naopak ve střední části křivky je nejvyšší, proto má výsledná křivka „esovitý“ charakter. Pokud je jednotka velikosti podnětu (např. koncentrace) udávána v metametrických jednotkách (logaritmus koncentrace), potom má křivka tvar normální sigmoidy (viz obrázek 4). Tato křivka dosahuje nulového nebo stoprocentního účinku v nekonečně malých a nekonečně velkých hodnotách  $x$ . Nekonečně nízké  $x$  reprezentuje nulovou dávku, nekonečně vysoké  $x$  je považováno za mezní hodnotu.[2]



Obrázek 4: Závislost procentuální úmrtnosti na koncentraci – logaritmická transformace [2]

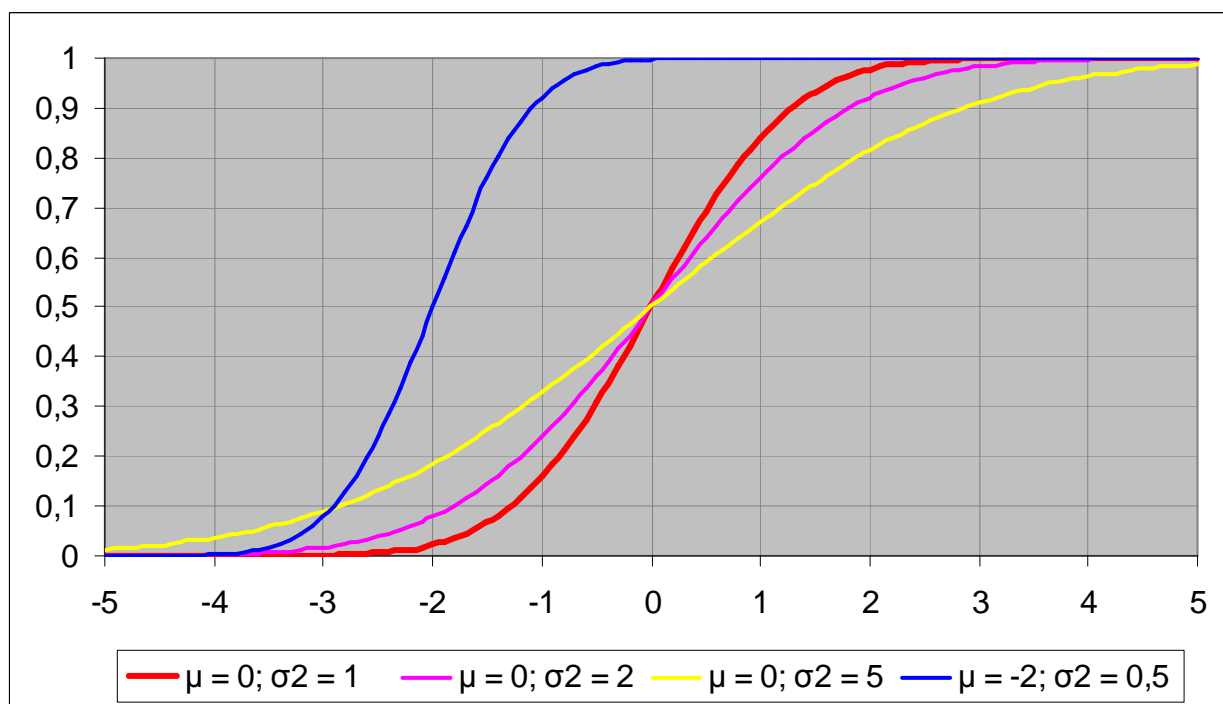
### 2.1.3 Parametry [2]

Normální distribuce četnosti logaritmu tolerance odpovídá rovnici přeepsané za pomoci dávkového metametru:

$$dP = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left\{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right\} dx \quad (4)$$

pro všechny hodnoty  $x$  v rozsahu od  $-\infty$  do  $+\infty$ .

Tento způsob je jeden z možností, jak vyjádřit normální rozdělení. Hodnoty  $\mu$  a  $\sigma$  - střední hodnota a rozptyl rozdělení jsou označovány jako parametry. Parametry každého druhu rozdělení jsou veličiny vyskytující se v algebraických specifikacích, číselné hodnoty, z kterých lze odvodit každé jednotlivé rozdělení za daného druhu. Rovnice (4) reprezentuje všechny normální rozdělení. Pokud dosadíme za  $\mu$  jakoukoli číselnou hodnotu a za  $\sigma$  libovolné kladné číslo, získáme jedno z normálních rozdělení (viz obrázek 5). Velká část statistické metodologie se zabývá určováním vztahů mezi parametry distribucí. [2]



Obrázek 5: Příklady normálního rozdělení

### 2.1.4 Střední efektivní dávka

První pokusy o charakteristiku efektivity podnětů s použitím vyjádření velikosti účinku vedly k pojmu minimální efektivní dávka nebo pro užší okruh účinků, minimální letální (smrtná) dávka. Tyto termíny se neosvědčily k použití na vyjádření rozložení tolerance uvnitř populace. Pochybnosti o platnosti výše uvedeného konceptu vyjádřil už v roce 1927 britský farmakolog John William Trevan:

*„Používání tohoto pojmu v literatuře může vést k tomu, že budou existovat předpoklady existence dávky, pro každý daný jed, která jasně postačuje k zabití většiny zvířat daného druhu, a že existuje dávka tak malá že nedokáže zabít žádné zvíře daného druhu. Nicméně každý vědec, který rozumí odhadování toxicity, ví, že tyto předpoklady nejsou pravdivé.“ [32]*

Jinak řečeno, minimální smrtná dávka jedu může být místo toho definována jako dávka dostačující pro usmrcení zástupce druhu s nejmenší možnou tolerancí a stejně tak maximální neletální dávka jako dávka, která nedokáže usmrtit nejodolnějšího člena.

Nepochybně existují dávky, které jsou tak nízké, že jim žádný testovaný subjekt nepodlehne a jiné tak vysoké, že jsou fatální pro všechny. Ovšem značné potíže nastávají při určení hodnot těchto dávek. Dokonce, i když tolerance může být měřena přímo, tvrdit, že ve vzorku deseti, nebo i sta měření byla nalezena nejmenší tolerance indikující minimální smrtnou dávku, by bylo nevhodné, protože větší vzorek může obsahovat jedince s extrémnější tolerancí. Pokud existuje jen kvantální účinek pro dané dávky, je problém ještě složitější, protože výskyt různých výjimečných jedinců v pokusných souborech pro různé dávky mohou vážně ovlivnit celkový výsledek. Problémem ve skutečnosti zůstává, že určení dávky, pro kterou se křivka dávka - účinek pro celou populaci setká s nulovými nebo 100 % hodnotami, mohou být i u zvláště rozsáhlých experimentů jen stěží odhadnutelné s jakoukoli přesností.

Trevan navrhl řešení tohoto problému tím, že se pozornost zaměří na jinou a přesněji definovatelnou vlastnost, střední smrtnou dávku, nebo jako více obecný termín střední efektivní dávku, která vyjadřuje i jiný druh účinku (např. nevratné účinky, slepota) než smrt. To vyjadřuje dávka, která vyvolá účinek u poloviny populace. Střední efektivní dávka je označovaná jako  $ED_{50}$  a střední smrtná dávka je označována jako  $LD_{50}$ . Analogicky jsou používány symboly, které způsobí projevení účinku u 90% populace –  $ED_{90}$ . Jak bude uvedeno dále, v experimentech s fixním celkovým počtem subjektů je procentuální efektivní dávka přesnější v okolí  $ED_{50}$  a může být obvykle odhadnutelná s větší přesností než ty s extrémnějšími procentuálními hodnotami. Tato charakteristika patří k těm, které jsou doporučované k popisu efektivnosti dávky.

Nevýhoda, zvláště v toxikologické praxi pramení z toho, že mnohem větší zájem je o dávky, které způsobují projev účinku blížící se 100% nebo 0, navzdory tomu jak složité je takové hodnoty odvodit. Pro jakékoliv rozdělení tolerance,  $ED_{50}$  je hodnota  $z_0$  dosazená do rovnice (2) vyjde  $P = 0,5$ . Pokud jsou známy parametry, které obsahuje funkce  $f(x)$ , rovnici lze řešit. Pro zjištění odpovídající hodnoty dávkového metameru je obdobná. Pro rozdělení reprezentované rovnicí (4)  $\log ED_{50}$  je hodnota  $x_0$  pro které:

$$0,5 = \int_{-\infty}^{x_0} \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left\{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right\} dx \quad (5)$$

Řešení se v tomto případě rovná  $\mu$ , takže  $ED_{50} = e^{\mu}$ .

$ED_{50}$  může být eventuelně považováno za medián distribuce tolerance, tzn., že přesně polovina úrovní tolerance všech subjektů leží na obě strany od tohoto čísla. Na každé metametrické stupnici, pro kterou bude rozdělení tolerance symetrické, se bude také shodovat medián. Logaritmus  $ED_{50}$  je také střední hodnotou na x-stupnici měření dávky. Pokud je použito přímé zobrazení, střední hodnota rozdělení by měla být převedena vzhledem k logaritmickému metameru jako primární charakteristika, většinou bez dalších výpočtů. Použití této veličiny je v případě, že kvantální účinek je jediným výsledkem pozorování, přirozená a konzistentní metoda. Pouze  $ED_{50}$  samo o sobě nepopisuje plně účinky působení podnětu. Dva druhy toxické látky mohou mít stejnou hodnotu, která způsobí projevení účinku u padesáti procent populace, avšak rozdělení tolerance může být u každé z nich rozloženo jiným způsobem. Pokud u jedné toxické látky má rozdělení tolerance širší rozložení, pak každé zvýšení nebo snížení dávky bude způsobovat větší změny v úmrtnosti než u druhé toxické látky. Rozšíření je charakterizováno změnou  $\sigma^2$ . Čím je menší hodnota  $\sigma^2$ , tím větší je efekt úmrtnosti při změně dávky.

Podněty, jejichž efekty jsou založeny na stejném principu (zvláště toxické látky, jejichž fyziologické efekty jsou podobné), často způsobují přibližně stejné změny logaritmu tolerance pro populaci subjektů, ačkoli se mohou podstatně lišit ve střední smrtné dávce. Takové podněty mohou být srovnány pouze v rámci střední smrtné dávky.

### 2.1.5 Normované normální rozdělení [2]

V roce 1933 přišel Gaddum s myšlenkou měřit pravděpodobnost účinku na transformované stupnici normovaného normálního rozdělení. To odpovídá metameru  $Y$  definovanému jako:

$$P = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^Y \exp\left\{-\frac{1}{2}u^2\right\} du \quad (6)$$

Normované normální rozdělení přiděluje každé hodnotě pravděpodobnosti  $P$  mezi 0 a 1 vektor odpovídající pravděpodobnosti  $P$  v normálním rozdělení se střední hodnotou 0 a rozptylem 1 (viz obrázek 5). Rovnice (6) určuje pro každé  $P$  jedinečné  $Y$ . Transformace se rozkládá přes oba extrémní stupnice, takže  $P$  má rozsah od 0 do 1,  $Y$  od  $-\infty$  do  $+\infty$ . Z dosazení do rovnice (4) jestliže  $P$  je pravděpodobnost účinku při dávce, jejíž metamer je specifická hodnota  $X$ , plyne:

$$P = \int_{-\infty}^x \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} \exp\left\{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}\right\} dx \quad (7)$$

která, pokud dosadíme:

$$x = \mu + \sigma u \quad (8)$$

dostaneme:

$$P = \int_{-\infty}^{(x-\mu)/\sigma} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \exp\left\{-\frac{1}{2}u^2\right\} du \quad (9)$$

Pokud srovnáme s rovnicí (6) vyjde nám, že:

$$Y = (X - \mu) / \sigma \quad (10)$$

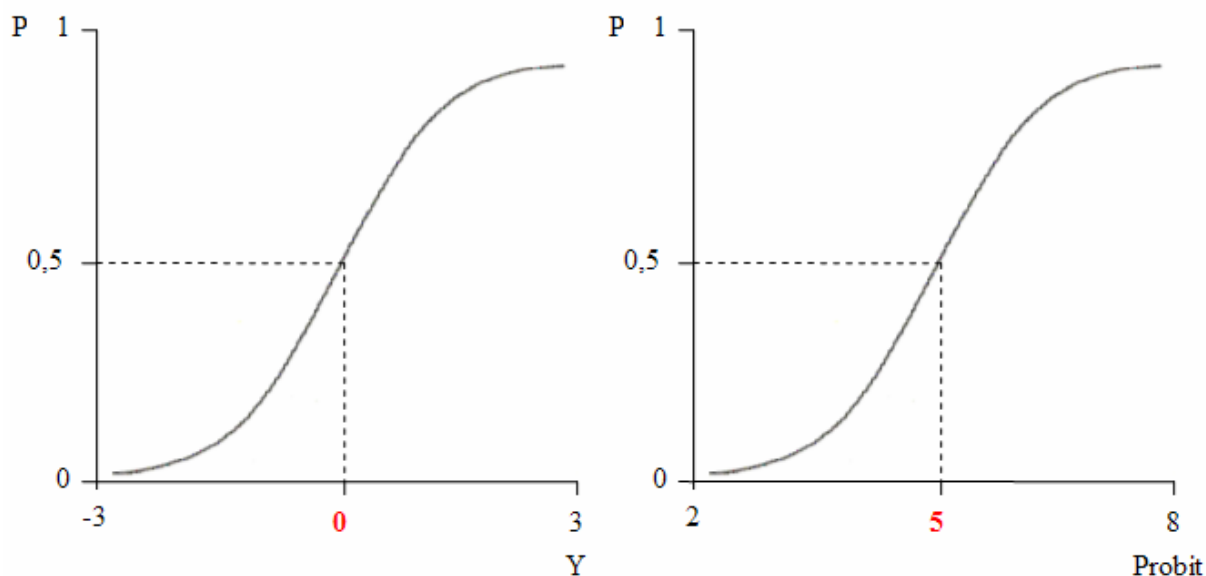
Potom vztah mezi dávkovým metametrem a normovaným normálním rozdělením pravděpodobnosti projevu účinku je při dané dávce přímka.

### 2.1.6 Zavedení termínu Probit [2]

V roce 1934 navrhl Bliss mírně rozdílný metametr pro vyjádření projevu účinku, navázal přitom na Gauddumův metametr  $Y$ , vyjádřený v rovnici číslo (6). Definoval probit jako  $Y$  kde:

$$P = \frac{1}{\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{Y-5} \exp\left\{-\frac{1}{2}u^2\right\} du \quad (11)$$

Pro každou pravděpodobnost  $P$  je probit jednoduše jako normované normální rozdělení zvětšené o pět. Všechna teorie, týkající se převodů a regrese, je v podstatě stejná pro oba metametry (jak pro  $Y$  definovaný Gaddume i pro probit,  $Y$  definovaný Blissem). Normované normální rozdělení, pokud je  $P$  menší jak 50 %, pracuje se zápornými hodnotami. Naopak, probit je vždy kladný, s výjimkou mimořádně malých hodnot, které ovšem nejsou v naprosté většině případů zohledňovány. V dobách kdy nebyly k dispozici výpočetní metody, bylo pro mnoho biologů příjemnější pracovat s nezápornými hodnotami. V současné době, když jsou k dispozici jednoduché nástroje pro statistickou analýzu, se může jevit použití transformace na normované normální rozdělení jako jednodušší, a proto název probitová analýza se vžil pro celkové označení těchto metod. V důsledku již zavedených postupů je výhodnější stále používat probit. Na obrázku 6 je znázorněn vztah mezi metametrem  $Y$  při použití normovaného normálního rozdělení a při použití probitu.



Obrázek 6: Rozdíl mezi transformací pomocí normovaného normálního rozdělení a při použití probitu

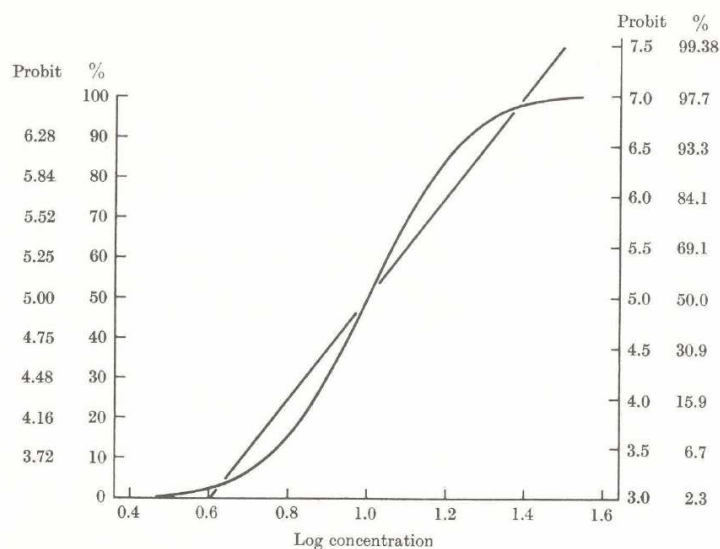
Jak již bylo řečeno, vztah mezi probitem očekávaného výskytu účinku a dávkou odpovídající rovnici (10) je lineární. Tento vztah vyjadřuje následující rovnice:

$$Y = 5 + \frac{1}{\sigma}(x - \mu) \quad (12)$$

Výsledky experimentů mohou vést k odhadu této rovnice a mohou být odhadnuty parametry rozdělení tolerance, zejména může být odhadnuta střední efektivní dávka pro  $x$  při  $Y = 5$ . Lineární rovnice (10) a (12) jsou často zapisovány ve tvaru:

$$Y = \alpha + \beta x \quad (13)$$

Rozdíl této přímky a její vztah ke křivce popisující vztah dávka - účinek je znázorněn na obrázku 7.



Obrázek 7: Probitová transformace [2]

Tabulka 1, vytvořená Blissem, udává probity, které byly vypočteny pro určené hodnoty pravděpodobností a následně je převzal a rozšířil Finney v literatuře [2]. Jak vyplývá z výše uvedené teorie, tabulka 1 odpovídá po přepočtu tabulkám zobrazujícím transformace na normované normální rozdělení.

**Tabulka 1: Přepočet probitu na procenta [2]**

P	0	0.01	0.02	0.03	0.04	0.05	0.06	0.07	0.08	0.09
0	-	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.59	3.66
0.1	3.72	3.77	3.82	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.08	4.12
0.2	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
0.3	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.61	4.64	4.67	4.69	4.72
0.4	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.92	4.95	4.97
0.5	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
0.6	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.41	5.44	5.47	5.50
0.7	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
0.8	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
0.9	6.28	6.34	6.41	6.48	6.55	6.64	6.75	6.88	7.05	7.33

### 2.1.7 Výpočet regresních koeficientů

Pro výpočet regresních koeficientů probitové funkce se používá metoda maximální věrohodnosti. Hlavním důvodem jejího použití je existence malého množství užitečných dat, u kterých navíc můžeme předpokládat, že nejsou vždy naprosto přesná. V takovém případě poskytuje metoda maximální věrohodnosti nejlepší možné výsledky. Metoda výpočtu probitových konstant pomocí metody maximální věrohodnosti je podobně popsána v literatuře [2].

### 2.1.8 Metoda maximální věrohodnosti [28]

Náhodný výběr  $x = (x_1, \dots, x_n)$  má sdruženou pravděpodobnostní funkci  $\{p_{k,\theta}\}$  nebo sdruženou hustotu pravděpodobnosti  $\{f_{k,\theta}\}$ . Při daných hodnotách  $x_i$ , kde  $i = 1, \dots, n$  závisí pouze na parametru  $\theta$ .

Tuto funkci nazýváme věrohodnostní a značíme ji  $L(x, \theta)$  (likelihood). Věrohodnostní funkce je stejná jako hustota pravděpodobnosti, ale proměnnou není  $x$ , nýbrž  $\theta$ . Metoda maximální věrohodnosti spočívá v tom, že se za odhad neznámých parametrů  $\theta = (\theta_1, \theta_2, \dots, \theta_p)'$  považuje vektor, který maximalizuje věrohodnost  $L$ .

Vektor  $\hat{\theta} \in \Theta$  nazýváme maximálně věrohodným odhadem, jestliže  $L(x, \hat{\theta}) \geq L(x, \theta)$   $\theta \in \Theta$ . Je obvykle jednodušší místo věrohodnostní funkce maximalizovat její přirozený logaritmus



(protože  $\ln L(x, \theta)$  je rostoucí funkcí  $L(x, \theta)$  maximum se nezmění). Při jednorozměrném parametru je podmínkou maximalizace:

$$\frac{\partial \ln L(x, \theta)}{\partial \theta} = 0 \quad (14)$$

U vícerozměrného parametru je řešením maximalizace vektor, který získáme řešením soustavy rovnic:

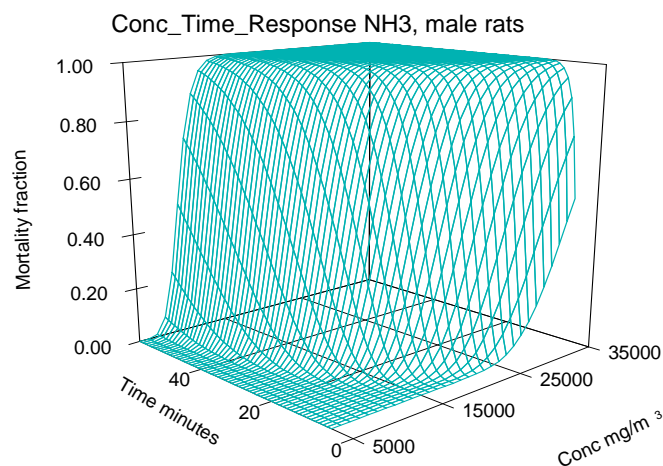
$$\frac{\partial \ln L(x, \theta)}{\partial \theta_k} = 0, k = 1, 2, \dots, p \quad (15)$$

### 2.1.9 Probitová funkce s více parametry [2]

Pokud účinek závisí na dvou kvantitativních veličinách, např. pokud zkoumáme inhalační vystavení toxické látky (koncentrace), kde je dalším důležitým parametrem doba expozice, je třeba, aby byly experimenty prováděny v různých kombinacích koncentrace a doby expozice (viz obrázek 8). Nejlépe je použít kombinace určitých stanovených koncentrací a určitých časů expozice (například 4 úrovně koncentrace a 5 různých dob expozice použitých ve dvaceti kombinacích). Extrémní hodnoty jak u koncentrací tak u časů mohou být vynechány, pokud se nepředpokládá, že mohou přinést užitečné výsledky. Probit účinku je lineárně závislý na logaritmu každého faktoru, který ho ovlivňuje. Závislost účinku na koncentraci a době expozice je potom znázorněna plochou, která je daná rovnicí:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 * \ln(C) + \beta_2 * \ln(T) \quad (16)$$

Tato rovnice byla zavedena v roce 1940 Blissem. Bylo stanoveno, že logaritmus doby expozice a koncentrace, které způsobují specifický účinek, spolu lineárně souvisejí. Odhad pomocí metody maximální věrohodnosti je potom pro více parametrů jen zobecněním metody pro jeden parametr.



Obrázek 8: Vztah mezi koncentrací, časem a úmrtností pro čpavek u laboratorní krysy [25]

## 2.2 Výpočet probit funkce pro toxicitu [1]

Vzhledem k tomu, že nejsou k dispozici dostatečně přesná data, která by mohla vést k jasnému stanovení obětí při havarijním úniku toxické látky, není možné odhad provádět pouze na základě běžných toxikologických znalostí. Přesto je dána potřeba jasného výpočetního modelu, jehož použití by bylo exaktnější než použití běžného "expertního odhadu".

Výpočetní model by měl být založen na konzistentním a transparentním postupu, měla by být u něj zachována jedinečnost výstupů a nemělo by docházet k rozdílným v interpretaci. Pro případy, kdy je třeba zjistit úmrtnosti jedinců při inhalačnímu vystavení toxické látce je nutné určitý model zvolit. Pro tyto účely je mimo jiné používána probitová funkce.

Probitová funkce určuje pomocí matematických a statistických metod vztah dávka – účinek. Pro účely určování inhalační expozice je chápán vztah dávka – účinek ve formě vzájemné relace koncentrace, času (doby expozice) a účinku. Nezahrnuje způsob účinku, ani jeho úroveň. Termín účinek je definován jako určení části populace, na které se stanovené efekty, v našem případě smrt, projevují.

Na rozdíl od hodnoty letální koncentrace, která je vyjádřena pouze jako kombinace určité koncentrace a určitého času expozice, používá probit funkce vztah, který pro určenou látku stanoví relaci mezi koncentrací, dobou působení a účinkem. Probitová funkce ukazuje, jakým způsobem ovlivňuje zvýšení koncentrace či doby expozice celkový účinek.

Probitová funkce, jak je převzata z literatury [2] je ve tvaru:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 * \ln(C) + \beta_2 * \ln(t) \quad (17)$$

Kde C = koncentrace [mg/m<sup>3</sup>]

t = doba expozice [min]

Y = probit

$\beta_0, \beta_1, \beta_2$  = regresní konstanty

Při grafickém znázornění vztahu mezi logaritmem koncentrace a účinkem vyjádřeným probitem nebo účinkem vyjádřenou procenty úmrtnosti jsou jasné rozdílnosti. Probitová transformace ve skutečnosti vytváří z esovité křivky distribuční funkce logaritmicko-normálního rozdělení přímkou (jak je patrné z obrázku 7). V praxi se pak používá k výpočtu účinku rovnice [1]:

$$Pr = a + b * \ln(C^N t) \quad (18)$$

která vznikla z původní rovnice úpravou a použitím odpovídajících konstant:

$$a = \beta_0$$

$$b = \beta_2$$

$$N = \beta_1 / \beta_2$$

Pr = Y = probit.

Úpravou této rovnice můžeme vypočítat také koncentraci a dobu expozice pro stanovený účinek. Vzájemné vztahy proměnných v rovnici (18) jsou určeny především hodnotami konstant ( $a$ ,  $b$ ,  $n$ ), přičemž každá konstanta v sobě zahrnuje určité faktory, které výrazně ovlivňují tvar výsledné funkce. V následující kapitole jsou detailněji rozebrány faktory ovlivňující konstanty probitových funkcí podle metody publikované v Green Book [1] a doplněné v dokumentu Dodatky k metodě pro stanovování probitových konstant [4].

### 2.2.1 Předpoklady pro učení konstant probitových funkcí pro člověka [1,4]

Pro zodpovědný přístup k odhadu probitových konstant pro člověka je třeba zohlednit následující faktory:

#### 1. Mezidruhové a vnitrodruhové odlišnosti.

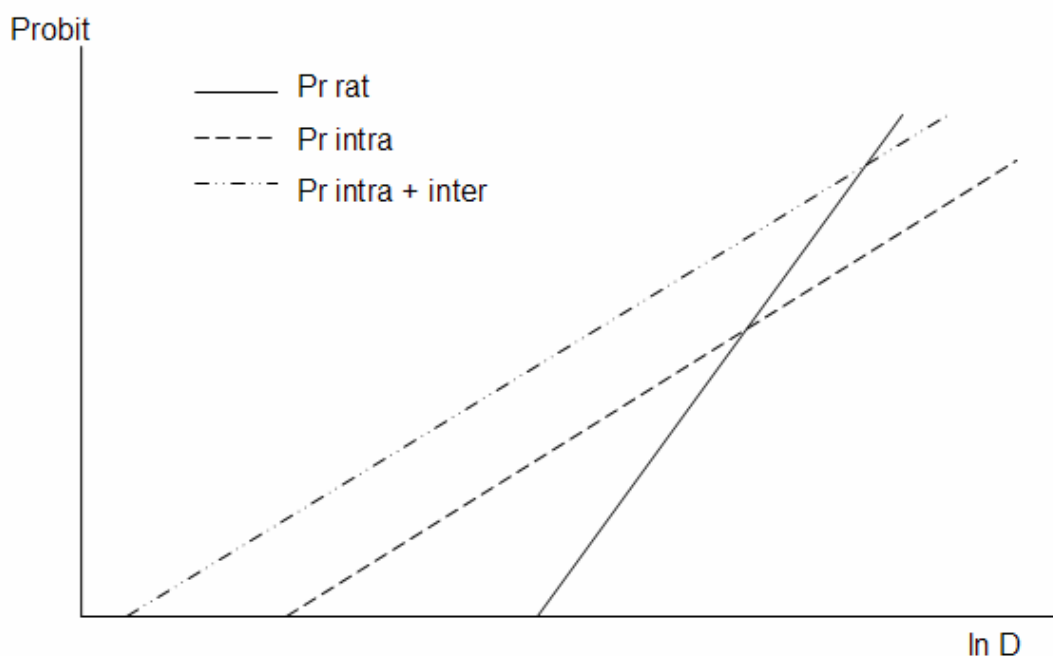
Rozdíly v účinku uvnitř jednoho druhu (intraspecies) jsou dané růzností ve zranitelnosti jednotlivých jedinců. Tato různost se odráží ve strmosti probitové funkce. Čím je funkce strmější, tím menší je rozsah hodnot koncentrace způsobujících určený účinek.

Pro větší hodnoty konstanty  $b$  je větší míra strmosti a také rozsah koncentrací je větší. Pro látky uvedené v první verzi Green Book [23], je hodnota konstanty  $b$ , vypočtená ze studií na zvířatech, v rozsahu 0,33 až 11,4.

Konstanta  $b$  pro probitovou funkci pro účinky na člověka byla v první verzi Green Book určena fixně jako hodnota 1. Pokud zvolíme za  $b$  fixní hodnotu, rozsah koncentrací způsobujících účinky závisí pouze na hodnotě  $n$ . Potom je rozptyl pro velká  $n$  menší, naopak pro malá je větší. Bylo vyhodnoceno jako neodpovídající, aby tato závislost byla pouze na konstantě  $n$ . Proto bylo doporučeno, aby výsledek součinu konstant  $b$  a  $n$  byl konstantní. Na základě publikovaných experimentů na zvířatech a s nimi souvisejících probitových konstant, byl vytvořen předpoklad, že optimálních výsledků je dosahováno pokud součin  $b \times n$  se rovná dvěma. Will ten Berge ve svém dokumentu [27] uvádí důvody proč doporučit ponechání tohoto pravidla v platnosti. Statisticky zpracoval výsledky součinů konstant  $b$  a  $n$  pro látky publikované ve staré verzi Green Book [23]. Uvádí zde, že hodnota součinu 2 odpovídá

devatenáctému percentilu, tedy jedná se spíše o konzervativnější hodnotu. Doporučuje tedy její použití.

Následně ovlivňují hodnoty konstant ještě roli rozdíly mezi jednotlivými druhy (interspecies). Rozdíl v citlivosti uvnitř populace může být chápán jako faktor, který určuje závislost na změně koncentrace a době expozice. Tento faktor však ovlivňuje dopad pouze aritmeticky. To znamená, že rozdíl v citlivosti mezi člověkem a zvířetem neovlivní konstantu  $b$  (a zároveň ani  $n$ ) ale pouze  $a$ , posunutí. Graficky je to znázorněno na obrázku 9: vnitrodruhová extrapolace změní sklon probitové přímky. Mezidruhová extrapolace (tzn. zahrnutí větší senzitivity člověka oproti druhu, na kterém byla provedena původní studie) pouze tuto přímku posune po  $x$ -ové ose.



Obrázek 9: Vliv vnitrodruhových a mezidruhových transformací na tvar probitové přímky [1]

Přímka je definovaná nejméně dvěma body, nebo jedním bodem a úhlem. V toxikologii je příliš mnoho nejistot na to, aby byla přímka (dávka-úmrtnost) založena na dvou bodech (nebo jednom bodě a úhlu). Proto je vhodnější založit odhad na standardních nebo obecně platných hodnotách. Probitová funkce založená na jediném bodu je potom velmi citlivá na vznik významných chyb. Přesnost modelu může být zvýšena použitím pečlivě provedeného experimentálního základu. To zahrnuje mimo jiné počítání s odchylkami ze standardního sklonu přímky. Na druhou stranu, rozsah odchylek je závislý na pozici kotevního bodu křivky. Je proto preference volit spíše centrální kotevní bod, než body v extrémních hodnotách.

Pokud je zvolena koncentrace způsobující 50% úmrtnost, znamená to výběr kotevního bodu, kde  $P = 5$ . Použití tohoto bodu je potom statisticky nejspolehlivější. [1]

## **2. Koncentrace a doba expozice**

Relativní příspěvek koncentrace a doby expozice pro toxický účinek není pro různé látky vždy stejný. Vzájemný vztah mezi ovlivněním celkového účinku při zvýšení koncentrace a při zvýšení času je vyjádřen pomocí konstanty  $n$ . V současné době je velmi málo známo, jakým způsobem se mění hodnota konstanty  $n$  u jednotlivých látek, pokud zkoumáme vliv jejich účinků na různé druhy. Je proto doporučeno používat konstantu  $n$  vypočtenou z dat získaných experimenty na zvířatech. [1]

## **3. Lokálně a systematicky působící substance**

Substance, které vstupují pomocí dýchacích cest do organismu, mohou být rozděleny na látky působící lokálně, anebo látky působící systematicky. Lokálně působící látky účinkují především v místech, kde se dostávají do přímého kontaktu s tělem, v případě inhalačního vstupu se jejich účinek týká především dýchacích cest. Systematicky působící látky jsou absorbovány plícemi, transportovány pomocí krve a účinkují především v jiných částech těla. V takovém případě velikost účinků značně závisí i na toxikokinetice a toxikodynamice, které jsou vysoce různorodé mezi jednotlivými druhy. Ve starší verzi Green Book byly definovány tyto dva typy substancí a pro každý z nich byly určeny extrapolační faktory. (viz kapitola 2.3.1). Pro nověji vyvíjené látky je na základě dodatků k metodě [4] použit standardní faktor nejistoty bez ohledu na to zda látka působí lokálně nebo systematicky.

### **2.2.2 Výpočet konstant probitových funkcí pro člověka**

Výpočet konstant probitových funkcí lze provést třemi způsoby:

- výpočet s použitím toxikologických údajů, v případě že máme k dispozici data pro více druhů expozice, která jsou získána ze série provedených experimentů;
- použití hodnoty LC50 (tento způsob je upřednostňován);
- výpočet s pomocí hodnot koncentrací, které by neměly způsobit úmrtí.

Pro každý z těchto způsobů je k dispozici jedna metoda.

#### **1. Experimentální toxikologická data**

Je doporučen protokol, který uvádí kritéria pro výběr jednotlivých studií (příloha č. 4 dokumentu [1]). Neexistuje jasné žádné doporučení, které by se týkalo preferencí ve výběru druhů, na němž by měla být studie provedena. V starší verzi Green Book [23], pokud byla použita data z různých studií na několika druzích zvířat, hodnota LC<sub>50</sub> pro člověka byla

stanovena jako dvojnásobek průměru upravených zvířecích hodnot. Tato metoda by měla být stále platná, avšak, jak je v Green Book zmíněno, je v budoucnosti třeba ji přezkoumat.

Na základě studie, která poskytuje experimentální data pro vícenásobné expozice s různou koncentrací a s různou dobou expozice, je nejprve určena probitová funkce pro testovaný druh. Probitová funkce je stanovena pomocí softwarových nástrojů, doporučen je například program DoseRespBeta2006 [25]. Ze získané probitové funkce je vypočtena hodnota  $LC_{50}$  pro 30 min pro testovaný druh. Při přepočtu  $LC_{50}$  pro člověka je použita hodnota  $LC_{50}$  pro testovaný druh a převedena pomocí faktoru nejistoty. Faktor nejistoty je určen na základě metody uvedené v dodatcích ke Green Book [4]:

### **Faktory nejistoty**

- Pro extrapolaci ze zvířecích dat na člověka se použije standardně extrapolační faktor 3. Zároveň je však v publikaci [1] poukázáno na nutnost detailnějšího vědeckého odůvodnění pro toto doporučení.
- Snížení za  $RD_{50}$  - pokud je hodnota  $RD_{50}$  menší než 20% hodnoty  $LC_{50}$  na zvířatech, je použit faktor 3, pokud je mezi 20% a 100% hodnoty  $LC_{50}$ , použije se faktor 2. V ostatních případech je použit faktor 1.
- Pokud studie udává jmenovité koncentrace, mělo by se vždy zvážit použití následujících faktorů:
  - pro plyny: 1 - pokud byl průtok plynu měřen správným způsobem nebo 2 - pokud nejsou k dispozici dostatečné informace o měření průtoku plynu;
  - odpařující se kapaliny: 1 nebo 2 - v případě, že charakteristika dané látky dává důvod ke vzniku pochybností;
  - rozprášené kapaliny: 4;
  - pro pevné látky nejsou přijatelné jmenovité koncentrace.
- Dále se použije faktor 1 - 2 podle počtu a typu studií, ze kterých se vycházelo. Studie jsou označovány písmeny A - pro studie provedené na myších, B - pro studie provedené na krysách, C - pro ostatní.

Hodnota  $LC_{50}$  stanovená na testovaných subjektech se poté vydělí součinem faktorů nejistot, a tím získáme hodnotu  $LC_{50}$  pro člověka.

Způsob, jakým jsou probitové konstanty vypočteny, je založen na použití  $LC_{50}$ , jelikož výpočet se s touto hodnotou jeví jako statisticky nejspolehlivější. Konstanta  $n$  je převzata z konstant probitové funkce určené pro testovaný druh. Pro výpočet konstanty  $b$  je použito pravidlo  $b \times n = 2$ , jelikož použití takových konstant nejlépe vystihne rozšíření možných

zranění v populaci postižené havarijním únikem. Probitová konstanta  $a$  je potom dopočtena s použitím extrapolované hodnoty  $LC_{50}$  (pro člověka), probitu 5 (50% úmrtnost) a  $b = 2/n$ , jak je uvedeno v následující rovnici:

$$a = 5 - \ln\{[LC_{50}(\text{člověk})]^n * 30\} \quad (19)$$

Z probitové funkce s vypočtenými konstantami lze vypočíst hodnotu  $LC_{01}$  pro člověka. Tato hodnota by měla být srovnána s LBW, což je v Nizozemsku vyvíjený limit akutní toxicity. Toto srovnání je nezbytné pro kontrolu konzistentnosti, jelikož LBW by měla být ekvivalentní k  $LC_{01}$ . Pokud je rozdíl v obou hodnotách 10 a vyšší, měly by být výsledky dále konzultovány.

## 2. Použití hodnoty $LC_{50}$ pro fixní čas.

Tento způsob stanovování konstant je preferován před ostatními způsoby.

Při použití hodnot  $LC_{50}$  (pro specifický druh zvířat), je nejprve hodnota  $LC_{50}$ , pokud je to nutné, převedena na 30 min  $LC_{50}$  pomocí vzorce:

$$C^n \times t = konst. \quad (20)$$

kde  $C$  = koncentrace [mg/m<sup>3</sup>]  
 $t$  = čas [min]

Pokud  $n$  není známo, použije se standardní pravidlo  $n = 2$ . S použitím extrapolčního faktoru je potom vypočteno  $LC_{50}$  (30 min.) pro člověka. Poté je stejným způsobem, jako v předchozím postupu vypočtena konstanta  $a$ .

## 3. Použití limitu akutní toxicity

Kromě odvození probitových funkcí pro člověka, může být probitová funkce stanovena také odvozením z limitů akutní toxicity s použitím standardních hodnot konstant  $b = 1$ ,  $n = 2$ . Jako limit akutní toxicity se může použít v Nizozemí vyvinutý LBW, který je definován jako hodnota koncentrace látky, jejíž překročení se po jednohodinové expozici může během několika dnů u zasažených jedinců projevit smrtí či život ohrožujícími stavy [20]. V případě jeho použití jsou LBW interpretovány jako  $LC_{01}$  (odpovídající probit 2,67) pro 60 minut. LBW hodnoty jsou poté přepočítány, za pomoci konstanty  $n = 2$ , na LBW pro 30 minut. Výjimku tvoří hodnoty LBW, které jsou založeny na hodnotách AEGL-3 [13]. V takovém případě se použije samotná hodnota AEGL-3 pro 30 minut. V technických dokumentech pro AEGL může být také stanovena hodnota konstanty  $n$ . Jestliže je zde uvedena, měla by být použita namísto standardní hodnoty. Není ovšem vhodné takovýto postup používat. V případě, že je pro hodnoty AEGL stanovena konstanta  $n$ , znamená to, že byla odvozena z původních experimentálních dat. Pokud jsou tato experimentální data popsána, je lépe odvodit probitovou funkci přímo z originálních dat.

## **2.3 Vybrané přístupy k transformaci zvířecích dat na člověka v oblasti akutní toxicity**

Při stanovování konstant probitových funkcí, představuje použití faktorů nejistot pro transformaci dat a výsledků získaných ze studií na zvířatech na hodnoty použitelné pro lidskou populaci jednu z nejvíc problémových částí. S tímto problémem se setkávají všechny metody, které slouží k určování odezvy lidské populace na nebezpečnou chemickou látku. V této části budou popsány způsoby řešení pro vybrané metody. Jedná se především o přístup použitý ve staré verzi Green Book (s pomocí takto určených faktorů byly stanovovány konstanty probitových funkcí pro látky publikované v Purple Book [8]), přístup americké agentury EPA [13] a řešení navržené v rámci evropského projektu ACUTEX [16].

### **2.3.1 Stanovení extrapolačního faktoru $f_d$ pro lokálně i systematicky působící látky. [23]**

Tento postup je stále uveden v nové verzi Green Book, avšak s poznámkou, že obsahuje dílčí chyby a je třeba ho přehodnotit. Probitové funkce vyvíjené v letech 2008–2009 se tímto postupem neřídí. Postup je nahrazen pravidly popsány v dodatcích ke Green Book [4].

#### **Lokálně působící látky**

Poškození dýchacího systému způsobené látkou je určeno toxicitou dané látky a vnímavostí daného druhu a závisí na množství inhalovaných částic a povrchu, na kterém se vstřebává. Pokud je stejná dávka rozprostřena na větším povrchu, bude způsobovat menší poškození než na povrchu menším. Rozdíl velikosti plic zvířete a člověka závisí poměrově na rozdílu jejich tělesných hmotností. Tento rozdíl je vyjádřen pomocí takzvaného poměru zatížení a z něho plynoucího extrapolačního faktoru  $f_d$ . Tento poměr zatížení je poté ještě rozšířen faktorem nejistoty 5, který v sobě obsahuje větší zachytnou kapacitu nosu zvířat, a předpoklad, že lidé dýchají většinou ústy a díky tomu se do plic dostává větší množství částic. Není zohledněn fakt, že u člověka může v horních cestách dýchacích dojít k odstranění určitého množství částic látky. Předpokládá se, že se všechny částice dostanou do plic.

#### **Systematicky působící látky**

Systematicky působící látky zahrnují poškození v krevním řečišti a při distribuci v těle. Rozdíly mezi lidmi a zvířaty jsou dané toxikokinetikou a toxikodynamikou, které určuje toxické účinky. Vzájemný rozdíl mezi těmito účinky je opět vypočten vztáhnutím na tělesnou hmotnost a výpočtem poměrového faktoru  $f_d$ . Ovšem kvůli velkým rozdílům v metabolismu,



rozílné toxikokinetice a toxikodynamice mezi různými zvířecími druhy a lidmi, je stanoven i větší faktor nejistoty 10, tedy dvakrát tak velký jako u lokálně působících substancí.

Dále je pro oba druhy látek uvažován faktor 2, který zohledňuje vyšší míru stresu při vystavení člověka toxické látce a s tím souvisejícím zvýšením minutového dechového objemu. Na rozdíl od použití jiných faktorů nejistoty, je hodnota získána ze zvířecích dat upravována násobením faktorem  $f_d$ . Seznam faktorů  $f_d$  pro různé druhy zvířat je uveden v tabulce 2.

**Tabulka 2: Faktor  $f_d$  pro převod hodnot smrtících koncentrací z různých druhů na člověka [23]**

Druh	Účinek	Poměrový faktor	Nejistota	Extrapoláční faktor $f_d$
Krysa	Lokální	3,3	5 x 2	0,33
	Systémový	5,1	10 x 2	0,26 > 0,25
Myš	Lokální	5,5	5 x 2	0,55
	Systémový	10,2	10 x 2	0,51 > 0,5
Morče	Lokální	2,6	5 x 2	0,26
	Systémový	3,8	10 x 2	0,19 > 0,2
Křeček	Lokální	3,6	5 x 2	0,36
	Systémový	5,8	10 x 2	0,29 > 0,3
Jiný				Dle druhu

### 2.3.2 Evropský přístup (ACUTEX) [16]

Evropská metodika se zabývá vývojem limitů akutní toxicity AETL. Limit AETL je rozdělen do tří stupňů účinku, přičemž na smrt je vztažena úroveň AETL 3a (očekává se úmrtí 50 % exponovaných jedinců) a AETL – 3b (maximální koncentrace která nezpůsobí smrt).

Pro transformaci limitů akutní toxicity ze zvířecích experimentálních dat na člověka, se v mnoha oblastech (potraviny, voda vzduch) považuje za bezpečné použití faktoru 10. Specificky pro krysy, je faktor deset vypočítán jako kombinace faktoru ovlivnění toxikokinetikou – 4, a faktoru ovlivnění toxikodynamikou - 2,5. V případě akutního vystavení nebezpečné chemické látce, kdy je tělo nuceno vyrovnat se v krátké době s masivní dávkou, je možné toxikokinetický faktor zanedbat. Proto se doporučuje uvažovat pouze o ovlivnění způsobené rozdílnou toxikodynamikou, a použití faktoru 2,5. Ten je zaokrouhlen na 3.

Dalším faktorem hodnoceným při vývoji AETL je vnitrodruhová odlišnost. Vychází z předpokládaného rozdílu sklonu křivky dávka - účinek u jednotlivých druhů.

Dalším uvažovaným faktorem je modifikační faktor, ovlivněný kvalitou a spolehlivostí výchozích dat. Může nabývat hodnoty 1 - 3.

Faktory použité pro výpočet limitů AETL jsou uvedené v tabulce 3.

**Tabulka 3: Faktory nejistoty při převodech prahových hodnot ze zvířat na člověka [16]**

Limit	Druh efektu	Vnitrodruhový faktor	Mezidruhový faktor	Celkový faktor
AETL-3a	Lokální	1	1	1
	Systémový	3	1	3
AETL-3b	Lokální	1	3	3
	Systémový	3	3	10

### 2.3.3 Faktory nejistoty používané při vývoji AEGL [13]

AEGL jsou vyvíjeny speciální komisí National Advisory Committee for Acute Exposure Guideline Levels for Hazardous Substances (NAC/AEGL Committee), která je stanovena jako součást agentury EPA [20].

Limity AEGL používají k určení dopadů účinků toxických látek na obyvatelstvo tři prahové úrovně. Ke smrti, jako účinku se vztahuje pouze úroveň AEGL-3. Další úrovně (AEGL-2 jako určení nevratných účinků, a AEGL-1 jako úrovně smyslového podráždění) nejsou pro účely této práce podstatné.

Pro účely pochopení analogie s probitovými funkcemi je vhodné, nejprve uvést jakým způsobem jsou hodnoty AEGL stanovovány. Samotná hodnota AEGL-3 může být získána 4 způsoby [13]:

- Pokud jsou k dispozici dostatečné informace, doporučenou metodou je probitová analýza, která se použije ke stanovení  $LC_{01}$ , přičemž k odhadu  $LC_{01}$  je použita metoda maximální věrohodnosti. V dalších fázích vývoje budou zpracovávány, předkládány a diskutovány hodnoty  $LC_{01}$  stanovené pomocí metody maximální věrohodnosti a  $BMC_{05}$  neboli Benchmark concentration (podrobněji řešeno v kapitole 2.3.4). Mohou být uvažovány také další statistické modely jako Weibullovo rozdělení. Může být zváženo více modelů a standardním testováním určeno, který z nich odpovídá nejlépe experimentálním datům. Kvůli značným nejistotám jsou pak odhadované hodnoty srovnány s empirickými daty. Pokud se ukáže vzájemná nekonzistentnost, odhadované hodnoty nebudou používány.
- Použití experimentálně zjištěné nejvyšší úrovně, která nezpůsobuje smrt (přičemž data musí pocházet ze studie, kde bylo pozorováno úmrtí).
- Použití 1/3 hodnoty  $LC_{50}$ .
- Z různých prahových hodnot. Pokud nejsou k dispozici dostatečná data, může se AEGL-3 stanovit z úrovní definovaných pro efekty, které ještě nezpůsobí smrt, ale způsobují vážné toxické účinky.

EPA doporučuje při vývoji limitů akutní toxicity používat pro transformaci dat získaných ze studií na zvířatech faktory nejistoty v rozmezí od 1 do 10. V metodice je doporučený postup, jaký pro jednotlivé získané hodnoty použít faktor [13]:

- Pokud je známo, že mezidruhová variabilita je nízká, jsou zvoleny vnímavé druhy, nebo jsou zvoleny takové druhy, jejichž biologický účinek je velmi podobný účinkům na člověka, je použit faktor 3.
- Pokud nejsou v experimentálních datech obsaženy vnímavé druhy, použije se faktor 10.
- Pokud je nepravděpodobné, že mechanismus účinku látky by byl pro různé druhy rozdílný, použije se faktor 3.
- Pokud není znám mechanismus účinku nebezpečné látky, použije se faktor 10.
- Pokud velká rozdílnost ve výsledcích získaných z experimentů na různých druzích, použije se faktor 10.
- Pokud jsou známa data popisující působení toxické látky na člověka a je z nich patrné, že člověk je pro danou látku vnímavější, použije se faktor 10.
- Pokud nejsou k dispozici adekvátní data a dostatečné informace o chemické látce a o mechanismu jejího účinku, použije se faktor 10.
- Pokud použití faktoru nejistoty 10 způsobí, že limit AEGL-3 (úroveň způsobující úmrtí) odpovídá koncentraci, pro kterou je známo, že u člověka nezpůsobí stanovený účinek, použije se faktor 3.
- Pokud je hodnota AEGL zvolena na základě dat ze studií, které byly provedeny pro různé doby expozice, předpokládá se, že tyto data poskytují spíše konzervativnější odhad. V odůvodněných případech může být hodnota faktoru nejistoty ještě snížena.
- Pokud je zvolena hodnota NOAEL, je faktor nejistoty zvolen na základě dostupných dat, v rozmezí 3 - 10. V případě, že je použita hodnota NOAEL přepočtená na člověka nebo získaná z pokusů na vnímavějších druzích, je také možné použít i faktor 1.

Při stanovování hodnot AEGL jsou také použity další faktory nejistoty upravující odezvu v lidské populaci (například pro vnímavou populaci, věk, nebo v případě že výsledné hodnoty neodpovídají datům, které jsou zjištěny pro člověka). Implicitně je použit faktor nejistoty 10 který může být za určitých okolností snížen na 3, v některých případech až 1.

Pro vývoj AEGL jsou použity mimo jiné tzv. modifikační faktory, které závisí na adekvátnosti a kompletnosti dat, které jsou určeny pro vývoj limitů AEGL. Tento faktor může opět nabývat hodnoty od 1 do 10, základní hodnota je však 1. [13]

Jak je uvedeno výše jedním ze způsobů stanovení AEGL-3 je použití tzv. BMC (viz další kapitola). Tento způsob umožňuje používat probitovou analýzu ke stanovení prahové hodnoty způsobem, který zohledňuje nejistoty plynoucí ze zpracování experimentálních dat.

### **2.3.4 Americký přístup k určení prahové hodnoty z experimentálních dat [13]**

Pokud hledáme "bezpečnou" nebo akceptovatelnou hranici koncentrace, je obecně používána experimentálně stanovená nejvyšší hodnota koncentrace, která u sledované populace (zvířat) ještě nezpůsobí negativní efekt (v našem případě smrt). V angličtině je nazývána no-observed-adverse-effect level (dále jen NOAEL). Tato hodnota je poté s použitím faktorů nejistoty transformovaná na hodnotu NOAEL pro člověka.

Nicméně tento způsob v sobě zahrnuje jisté problémy. Především není určeno, jak velký vzorek populace je třeba pro určení NOAEL. Není také nijak zohledňována křivka dávka – účinek. Hodnota NOAEL, získaná z některých studií, zvláště pokud bylo použito jen malé množství subjektů, může být potom značně nepřesná. Proto byla navržena metoda založená na širší statistické analýze dat. Jedná se o výpočet takzvané BMC (benchmark concentration) – orientační koncentrace. BMC je definována, jako spodní 95% hranice spolehlivosti hodnoty koncentrace, která způsobuje specifickou úroveň odezvy (nejčastěji mezi 1 a 10 procenty.)

Tento přístup má několik výhod: vstupní data procházejí statistickým zpracováním, a hodnota je tedy méně náchylná k chybám vznikajícím odlišností jednotlivých jedinců. BMC je také ovlivněná počtem testovaných jedinců, jelikož při menším počtu bude hranice nejistoty větší. Srovnání získaných hodnot vedlo k nedoporučení používání BMC<sub>10</sub>, které svou velikostí často odpovídá spíše úrovni LOAEL (lowest-observed-adverse-effect level – nejnižší hodnota koncentrace, která u sledované populace způsobí negativní efekt). Doporučuje se spíše použití BMC<sub>05</sub> (tato úroveň je dále doporučována k samotnému vývoji hodnot AEGL-3).

## **2.4 Probitová funkce pro účinky požáru a výbuchu**

Výše uvedené informace se zabývají pouze probitovou funkcí pro účinky toxické látky. Současně jsou používány probitové funkce pro účinky požáru a výbuchu.

Probitová funkce je model, který popisuje vztah působení určitých podnětů a účinek, který vyvolá u subjektů, na které působí. Jak vyplývá z charakteru teorie, může být aplikována na účinky způsobené jinými podněty (přetlak, tepelné záření). Jelikož lze popsat mechanismus účinku tepleného záření nebo přetlaku na člověka, může být, pokud jsou k dispozici dostatečná data, použita probitová funkce i k analýze účinků požáru a výbuchu. Předpokládá

se, že i v takovém případě bude mít rozložení účinků v populaci logaritmicko-normální charakter.

### 2.4.1 Probitová funkce pro účinky požáru

Fyziologické účinky požáru na člověka závisí na míře tepelného toku z požáru na člověka a na době působení požáru na člověka. Pro odhad fatality působením tepelného záření z požáru kaluže se používá rovnice [8]:

$$\text{Pr} = -36,38 + 2,56 \cdot \ln\left(Q^{\frac{4}{3}} \cdot t\right) \quad (21)$$

kde Pr je probit odpovídající pravděpodobnosti úmrtí  
Q je tepelné záření [W·m<sup>-2</sup>]  
t je čas expozice [s]

Detailnější rozebrání modelu a popis jeho dalších možností a použití je uveden v Green Book [1].

### 2.4.2 Probitová funkce pro účinky výbuchu

Při výbuchu nastává jisté množství efektů, které mohou vést k smrti zasaženého jedince. Tyto efekty jsou rozděleny do dvou skupin:

#### Přímé nebo primární efekty

- Jedná se o účinek, který způsobuje změna tlaku přímo vyvolaná výbuchem. Taková změna může způsobit poškození zranitelných orgánů (především plic), a vést k smrti.

#### Nepřímé efekty

- Nepřímé efekty jsou dále děleny do dvou skupin:
  - Sekundární - v nichž jsou zahrnuty zranění, které způsobují letící úlomky a střepiny. Jsou při tom uvažovány jak objekty přímo vzniklé při výbuchu, tak ty které jsou v okolí, a výbuchem jsou vrženy.
  - Terciální - jedná se o případy, kdy jsou tlakovou vlnou zasažené osoby vrženy, a zraněny, případně usmrceny nárazem do jiných statických objektů.

Probitová analýza účinků výbuchu se proto musí zabývat každým efektem zvlášť. V literatuře [10] je uvedena rovnice, která vyjadřuje vztah mezi úmrtností a velikostí přetlaku. Rovnice je však vztažena pouze k účinku na plíce:

$$Pr = -77,1 + 6,91 \ln(P_0) \quad (22)$$

kde  $Pr$  je probit  
 $P_0$  je maximální přetlak [Pa]

V Green Book [1] je každý efekt výbuchu řešen zvlášť a je poskytnuto poměrně velké množství probitových funkcí pro různé druhy a stupně efektů. Složitost celé problematiky je patrná i na tom, že probitové funkce pro výbuch nebyly převzaty do Purple Book [8].

Bližší pohled na oblast probitových funkcí stanovovaných pro účinky explozí a výbuchu je nad možností této práce, proto v dalších částech nebudou řešeny.

## 3 Praktická část

V praktické části práce je hodnocena vhodnost použití probitové funkce pro účely AHR, k tomuto cíli byly požity následující dílčí kroky:

- srovnání různých hodnot probitových konstant publikovaných ve světě;
- porovnání hodnot probitové funkce s mezinárodně používanými limity akutní toxicity;
- rozbor příčina rozdílnosti obou hodnot;
- případová studie stanovení konstant a výpočet hranic spolehlivosti při statistické analýze experimentálních dat;
- případová studie stanovení konstant probitových funkcí, které nebyly vypočteny přímo z experimentálních toxikologických studií;
- rozbor a zhodnocení nejistot a dalších faktorů ovlivňující výsledný tvar probitové funkce.

### 3.1 Srovnání hodnot probitových funkcí

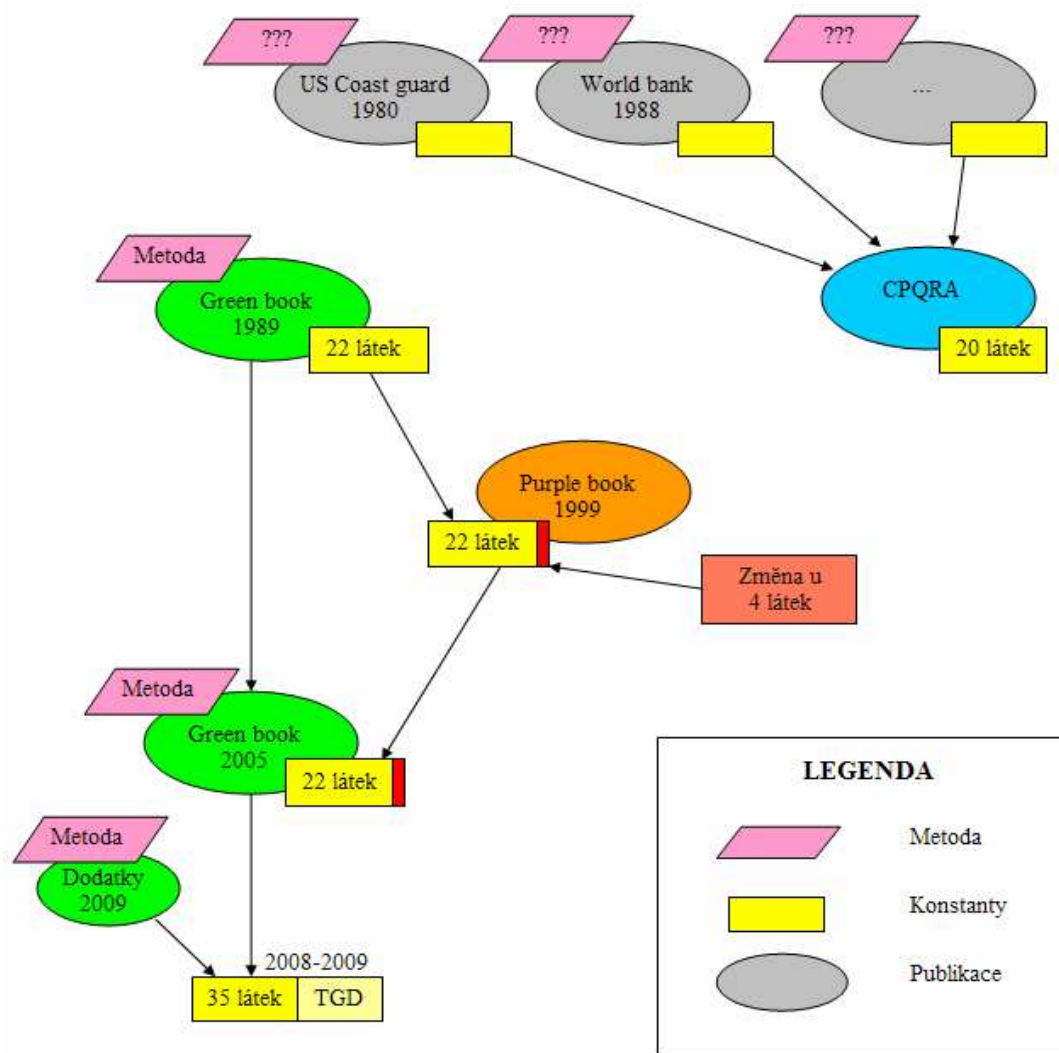
Následující srovnání hodnot probitových funkcí je provedeno formou přehledu publikovaných konstant, jejich vzájemného srovnání a následného srovnání výstupů probitových funkcí s limity akutní toxicity.

#### 3.1.1 Aplikační vymezení řešené problematiky

V dokumentaci Green Book (1989) [23] bylo vybráno 25 chemických látek, pro které měly být probitové funkce primárně stanoveny. Byly zhodnoceny tři kritéria, a to hierarchicky: specifická toxicita, těžkavost a frekvence použití v praxi. Pro 22 z těchto látek byly vypočteny a publikovány hodnoty konstant probitové funkce (viz příloha 2). V příloze 4 ke starší verzi Green Book [23] jsou potom uvedeny hodnoty konstant vypočtených pro zvířecí studie, které sloužily k odvození konstant pro probitové funkce pro člověka. U jednotlivých hodnot jsou uvedeny odkazy na původní studie na zvířatech, ze kterých byly získány. V aktuální verzi Purple Book z roku 1999<sup>2</sup> [8] byly publikovány stejné chemické látky se stejnými konstanty jako v dokumentaci Green Book (1989), výjimku však tvoří čtyři z nich (chlor, čpavek, fosgen a chlorovodík), u kterých byly hodnoty konstant upraveny. Schéma vývoje a existence probitových konstant je znázorněno na obrázku 10.

---

<sup>2</sup> Během roku 2010 bude vydána nová verze dokumentu Purple Book.



Obrázek 10: Schéma publikovaných probitových konstant

V období mezi říjnem roku 2008 a prosincem 2009 byly pracovní skupinou institutu RIVM stanoveny konstanty probitových funkcí pro více jak třicet dalších nebezpečných látek (jejich seznam je uveden v příloze č. 1). Tyto látky byly vyvinuty na základě metody publikované v nové verzi Green Book a v dokumentu Dodatky k metodě pro stanovování probitových konstant [4]. Ke každé látce vznikl takzvaný TSD (Technical Support Document), který je volně přístupný na internetových stránkách institutu RIVM [30]. Podobně jako při vývoji limitů AEGL jsou hodnoty konstant předkládány odborné i širší veřejnosti průběžně, ve vývojových stupních proposed, interim a final. V době zpracování této práce (březen 2010) mají některé dokumenty TSD úroveň „proposed“ a některé „interim“ [3].



Konstanty probitových funkcí byly publikovány dalšími institucemi a subjekty. Většina těchto hodnot je odvozena z malého množství studií, často jsou při tom kombinována data ze studií na více druzích zvířat. Centre for Chemical Process Safety (dále jen CCPS) z Amerického institutu pro bezpečnost chemických procesů (AIChE) se pokusilo tyto hodnoty shromáždit v literatuře Guidelines for Chemical Process Quantitative Risk Analysis (CPQRA) [10].

V tabulce 4 je uveden seznam různých probitových konstant, které jsou dostupné pro chlor, čpavek a kyanovodík. Tyto hodnoty jsou získány z různých zdrojů [23,10,7]. Hodnoty konstant jsou uvedeny pro výpočet z koncentrací udávaných v mg/m<sup>3</sup>. Původní hodnoty, převzaté z amerických zdrojů, kde je výpočet obvykle prováděn v ppm, jsou vyjmenovány v příloze č. 4.

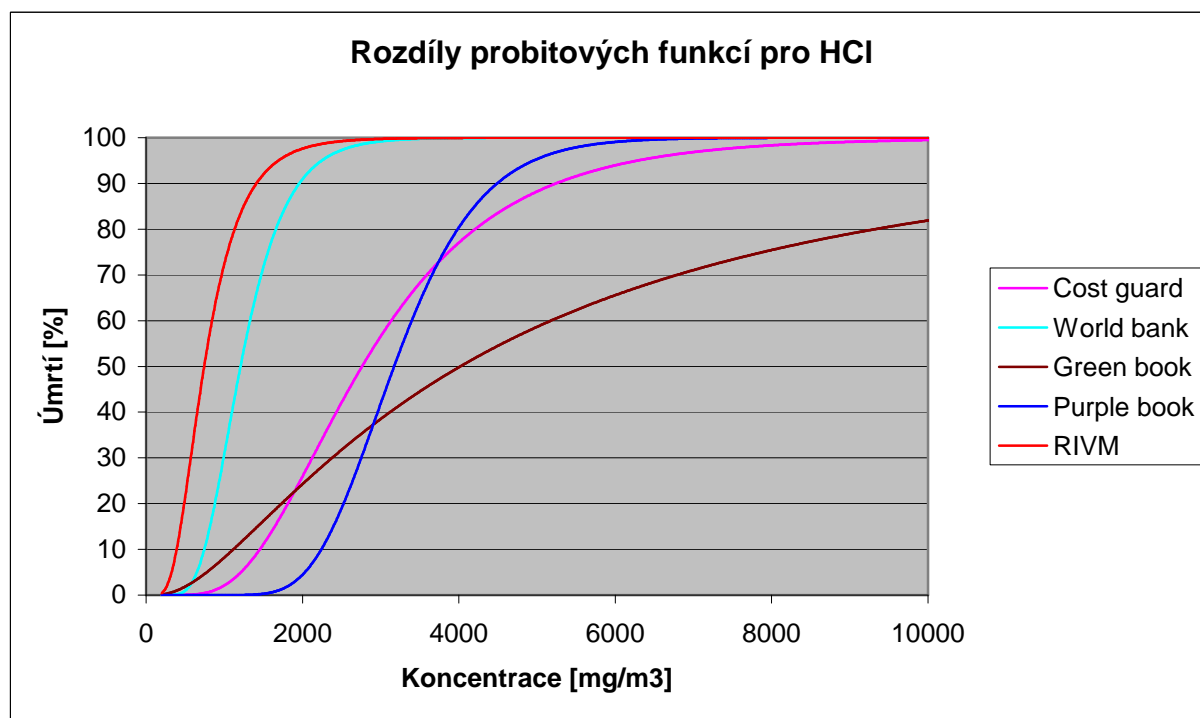
**Tabulka 4: Konstanty probitových funkcí publikované různými institucemi**

<b>Chemická látka – studie</b>	<b>a</b>	<b>b</b>	<b>n</b>
<b>Chlor</b>			
Eisenberg, Lynch and Breeding (1975)	-22,05	1,69	2,75
Perry and Articola (1980)	-45,25	3,13	2,64
Rijnmond (1983)	-13,8	0,82	2,75
ten Berge and van Heemst (1983)	-6,5	0,5	2,75
World bank (1980)	-6,76	0,5	2,75
Green Book (1989)	-14,3	1	2,3
Purple book (1999)	-6,4	0,5	2,75
<b>Čpavek</b>			
US Coast Guard (1980)	-34,06	1,85	2,75
World Bank (1988)	-9,3	0,71	2
Green Book (1989)	-15,8	1	2
Purple book (1999)	-15,6	1	2
<b>Chlorovodík</b>			
US Coast Guard (1980)	-17,65	2	1
World Bank (1988)	-22,82	2,65	1
Green Book (1989)	-6,7	1	1
Purple book (1999)	-37,3	3,69	1
RIVM (2009)	-12,8	1,35	1,48

Z uvedené tabulky je zřejmé, že tyto hodnoty si ne vždy odpovídají. Rozdílnost tvaru křivky koncentrace-účinek jsou patrné z grafu na obrázku 11. Grafy pro další látky, čpavek a chlor jsou uvedeny v příloze č. 5.

Rozdílnost konstant uvedených v publikacích [23] a [10] zkoumal ve své práci Simon Schubach [5]. Dochází k závěrům, že mezi hodnotami získanými z jednotlivých zdrojů je znatelný rozdíl. Rozdílnost potom plyne především z odlišných výchozích dat a také z toho, že TNO používala ke stanovování hodnot faktory nejistoty. Obecně tvrdí, že TNO rozeznala nejistoty plynoucí z transformace dat ze zvířecích studií na člověka. Navrhuje přezkoumat

data sloužící ke stanovení konstant publikovaných CCPS. Jelikož původní data sloužící ke stanovení těchto konstant nejsou dohledatelná, nelze jeho tvrzení jednoznačně potvrdit nebo vyvrátit.

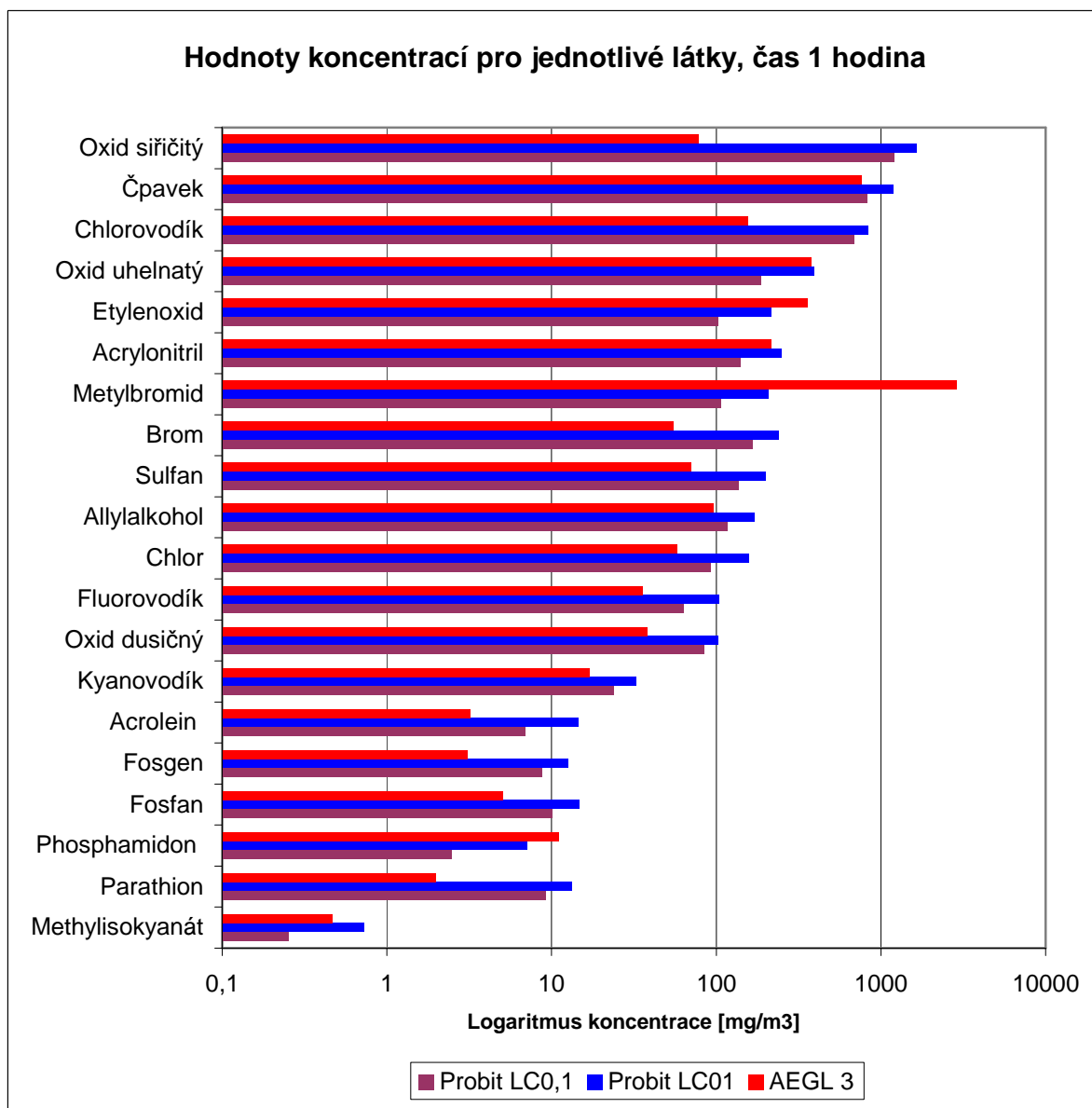


Obrázek 11: Rozdíly tvaru křivky dávka účinek při použití různých konstant pro HCl

### 3.1.2 Srovnání s limity akutní toxicity.

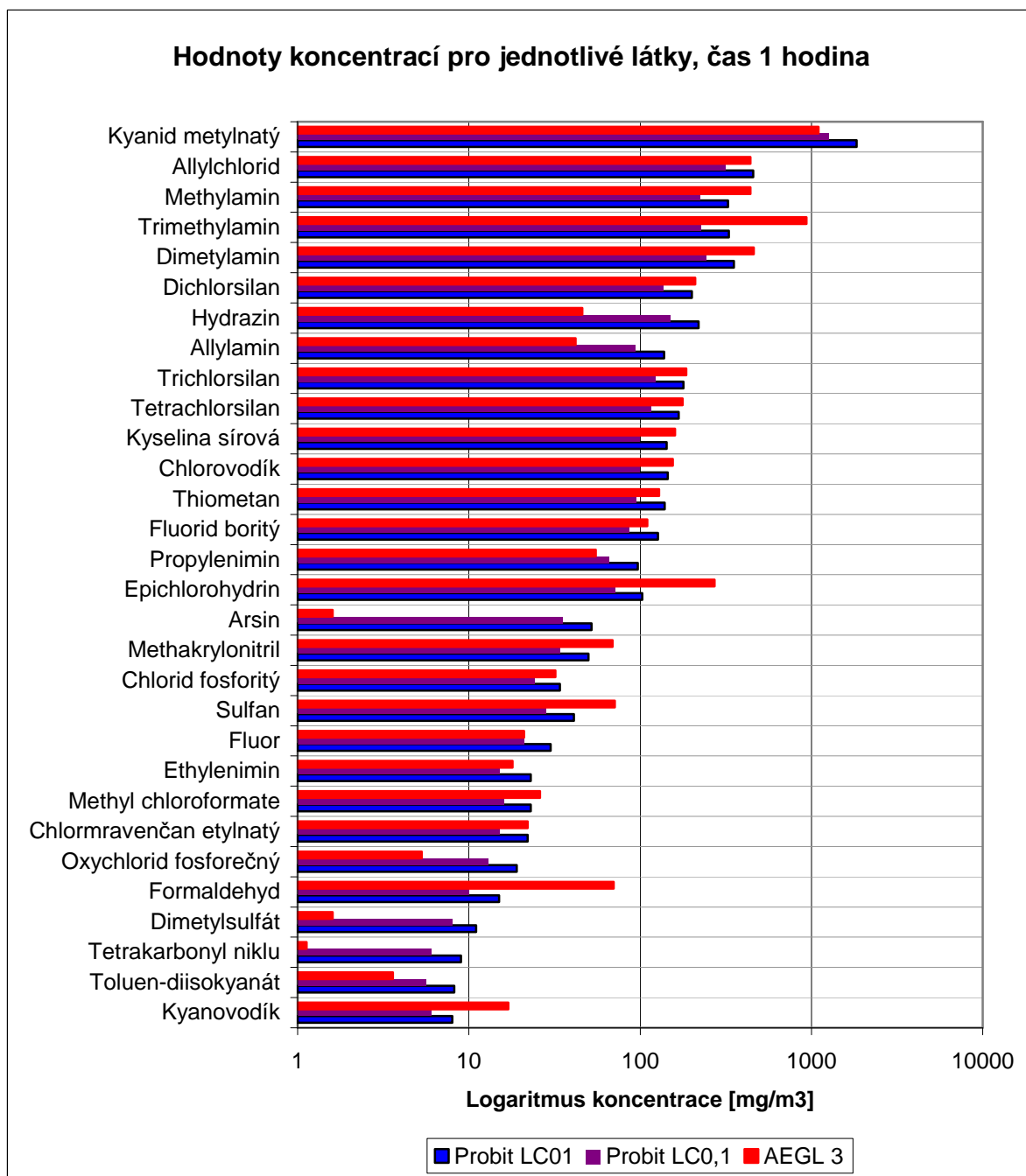
Limity AEGL patří k jedněm ze světově nepoužívanějších limitů akutní toxicity. Zároveň poskytují veřejně přístupnou a jasnou metodiku, která vede k vývoji těchto limitů. Pokud jsou hodnoty AEGL stanoveny pro určitou látku, je poskytnut i TGD, kde je přesně specifikován způsob jakým bylo daných hodnot dosaženo.

Proto srovnání hodnot vypočtených pomocí probitové funkce bylo provedeno právě s těmito limity. Srovnání bylo provedeno s úrovní AEGL-3, která odpovídá koncentraci, nad kterou se předpokládá, že mezi zasaženým obyvatelstvem může dojít k úmrtí. Jako odpovídající hodnoty byly z probitové funkce zvoleny úrovně  $LC_{01}$  a  $LC_{0,1}$ , tedy úrovně, které udávají očekávanou úmrtnost v zasažené populaci buď jedno, nebo jednu desetinu procenta. Srovnání bylo provedeno nejprve pro 22 látek, pro které byly konstanty probitové funkce publikovány v Purple Book v roce 1999. Výsledky jsou zobrazeny v grafu na obrázku 12. Jako doba expozice byla zvolena jedna hodina, v příloze č. 8 je vykreslen graf pro dobu expozice 30 min. Je zde zobrazeno pouze 20 látek a to z důvodu, že dvě látky nebyly limity AEGL doposud stanoveny.



**Obrázek 12: Rozdíly hodnot vypočtených probitovou funkcí a hodnotami AEGL-3**

V dalším grafu (obrázek 13) je provedeno srovnání látek publikovaných v letech 2008 a 2009. Znovu je použita hodnota  $LC_{01}$  a  $LC_{0,1}$ . Z 35 je zobrazeno pouze 30, opět z důvodu, že pro pět zbývajících látek nebyla hodnota AEGL-3 stanovena. Z grafu je jasně patrné, že v několika případech si hodnoty výrazně neodpovídají. Jelikož v TGD poskytnutých s nově vyvinutými probitovými konstantami je v případě výraznějších rozdílů specifikováno, jaké faktory mají na rozdílnost výsledků největší vliv, budou tyto faktory v následující kapitole dále rozebírány. Pro konstanty chemických látek uvedených na obrázku 12 nejsou dostupné dostatečné informace, proto bližší pohled na rozdíly není možný.



Obrázek 13: Rozdíly hodnot vypočtených probitovou funkcí a hodnotami AEGL-3

Zhodnocení grafů je uvedeno v kapitole 4.

### 3.1.3 Důvody rozdílnosti jednotlivých hodnot [29]

Důvody jsou uvedené v TGD pro každou specifickou látku:

- Trimethylamin – hodnota AEGL-3 je v tomto případě třikrát větší než hodnota probitu. Důvodem tohoto rozdílu je při vývoji probit funkce použití faktoru 3 za hodnotu  $RD_{50}$ , která je u trimethylaminu výrazně nižší než ze zvířecích dat vypočtená  $LC_{50}$ .

- Hydrazin – při vývoji hodnoty AEGL-3 byl použit celkový faktor nejistoty 30, zatímco při vývoji probit konstant pouze faktor 6. Rozdílný faktor byl však aplikován na data získané ze stejné studie.
- Allylamin – rozdíl v hodnotách je způsoben použitím dalšího faktoru 3 pro širší rozsah účinku u člověka, který byl aplikován pouze při stanovení AEGL-3.
- Epichlorhydrin – důvodem výrazně vyšší hodnoty u  $LC_{01}$  z probit funkce je použití jiné studie pro stanovení konstant probit funkce a jiné pro určení AEGL-3.
- Arsin – velmi významný rozdíl je v tomto případě způsoben použitím odlišné studie a jiného způsobu stanovení. AEGL-3 byla stanovena jako nejvyšší koncentrace, která ještě nezpůsobila úmrtí, a to z jiné studie, než z jaké byla určena probitová funkce. Na hodnotu této koncentrace byl navíc použit faktor nejistoty 30.
- Oxychlorid fosforečný – rozdíl je zapříčiněn odlišným způsobem stanovení  $LC_{50}$ . Zatímco přístup AEGL využívá studii, která byla při vývoji probitové funkce shledána jako nespolehlivá, RIVM použil k vývoji probit funkce  $LC_{50}$  a koeficient n hodnoty vyvinuté pro podobnou látku (Chlorid fosforitý) pro který existuje více dostupných dat.
- Formaldehyd – rozdíl v hodnotách je dán v stanovení faktoru za nízké  $RD_{50}$  a faktoru za nízkou kvalitu databáze, který byl použit pro vývoj probit funkce.
- Dimethylsulfát – rozdíl je dán použitím různých studií, přičemž pro AEGL byla použita studie, která poskytla nejvyšší koncentraci, při které nedošlo k úmrtí jedinců (NOAEL). Navíc byl použit faktor nejistoty 10 (u probitové funkce jen 3).
- Tetrakarbonyl niklu – rozdíl hodnot je daný použitím odlišné studie. Pro vývoj AEGL byly použity studie na myších, přičemž myši jsou považovány za senzitivnější.
- Toluén diisokyanát – neodpovídající si hodnoty jsou v tomto případě opět způsobeny použitím rozdílných studií. Pro AEGL byla použita studie na myších.
- Kyanovodík – rozdíly v hodnotách jsou dané použitím rozdílných studií. Při vývoji probitových konstant byl zvolen výběr konzervativnějších hodnot.

### **3.2 Případové studie výpočtu probitových konstant**

V další části bude proveden bližší pohled na způsob určování probitových konstant pro jednotlivé látky. V jeho rámci byly vyznačeny a zobrazeny nejistoty, které plynou z jejich stanovování. Pro tento účel bylo zvoleno šest látek, na kterých budou znázorněny postupy, jakými jsou (a byly) konstanty zjišťovány. Látky byly vybrány podle několika kritérií. Ve většině případů se jedná o látky, uvedené v tabulce č. 1 přílohy č. 1 zákona č. 59/2006 [9].

Pokud pro tyto látky existuje probitová funkce, která byla publikována v letech 2008–2009 (jen pro látky, jejichž dokumentace TGD je ve fázi interim), je v této diplomové práci popsán postup jejího výpočtu. V případě látek, pro které byly probitové funkce stanoveny ve starší verzi Green Book [23], je postup jejich vývoje zobrazen na příkladu stanovení konstant pro čpavek. Čpavek sice není jmenovitě uveden v příloze č. 1 zákona 59/2006, patří však mezi vybrané nebezpečné látky, a podle literatury [22] je v české republice jednou z nejčastěji hodnocených toxických látek v AHR.

Chlor není do tohoto výčtu zahrnut, jelikož hodnota jeho konstant stanovená v původní verzi Green Book a hodnota uvedená v Purple Book se liší. Důvod proč došlo ke změně hodnoty konstanty a podklady, které sloužili ke stanovení nových konstant, však nebyly publikovány ani nizozemskou stranou poskytnuty. Ačkoli k dílčí změně došlo i u čpavku, autor nepředpokládá, že změna bude podstatně ovlivňovat názornost příkladu, protože byla pouze nepatrně upravena konstanta  $a$ . Poslední látkou zařazenou do výběru je propylamin. Propylamin byl zvolen z důvodu, aby byl popsán způsob, jak se provádí výpočet konstant dle prahových hodnot.

Případové studie jsou rozděleny na tři části:

- Probitová analýza experimentálních dat, které sloužily jako základ pro stanovení konstant probitových funkcí chlorovodíku a ethyleniminu vyvinutých RIVM. Při této analýze budou zobrazeny nejistoty, které z tohoto zpracování plynou.
- Zobrazení způsobu výpočtu probitových konstant pro čpavek, jako příklad výpočtu konstant podle metody Green Book (1989).
- Popis způsobu výpočtu probitových konstant, publikovaných RIVM, při použití jiného postupu než zpracování experimentálních dat (viz kapitola 2.2.2).

### **3.2.1 Probitová analýza experimentálních dat**

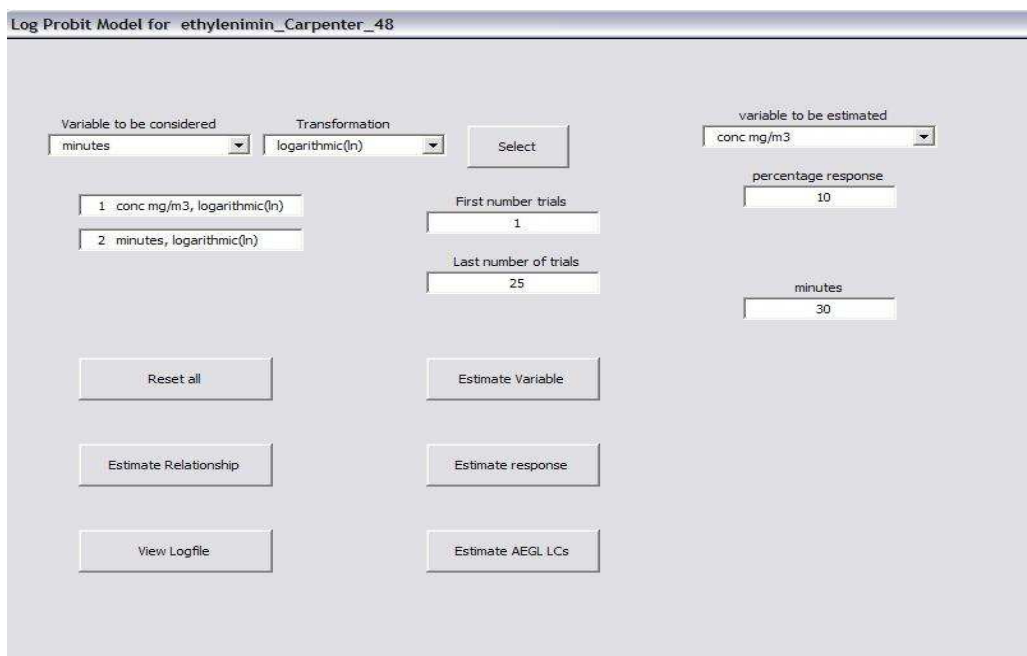
#### **Software**

Pro probitovou analýzu se používají různé softwarové nástroje. Většina komplexních nástrojů pro statistické zpracování dat, obsahuje funkce umožňující provádět probitovou analýzu. Patří mezi ně např. SPSS nebo SAS. Z veřejných zdrojů na internetu lze získat i další jednoduché programy, umožňující provádět probitovou analýzu [6]. Pro účely vývoje probitových funkcí v Nizozemsku, vytvořil Will Ten Berge jednoduchý program, provádějící statistickou analýzu podle [2]. Program je určen primárně pro probitovou analýzu a s jeho pomocí jsou stanovovány konstanty probitových funkcí, které jsou v současné době publikovány RIVM. Zároveň umožňuje provádět regresi podle Weibulova nebo toxikokinetického modelu.

Americká EPA nabízí vlastní Benchmark Dose Software (dále jen BMDS), vyvinutý pro účely stanovování hodnot nebezpečných koncentrací pro rizikové analýzy. BMDS opět nabízí větší množství modelů, jedním z nich je právě model převzatý od Willa ten Bergeho. Software BMDS je také určen ke stanovování hodnot AEGL-3. Jednou z dalších možností tohoto software je stanovování prahové hodnoty, tzv. BMC.

### **DoseResponseBeta2006**

Program poskytuje na svých internetových stránkách Will ten Berge [25]. Tento program je vytvořen v jazyce Visual Basic for applications a k dispozici je jako Makro v programu Microsoft Excel (viz obrázek 14). Vstupní data jsou zadávána přímo do programu Excel, výstupy programu jsou uloženy do zvláštního souboru. Program používá k výpočtu regresních koeficientů probitové funkce metodu maximální věrohodnosti, popisovanou v literatuře [2]. Umožňuje odhad regresních koeficientů, a také výpočet jednotlivých hodnot – času, koncentrace a úmrtnosti. Stanovuje také 95% procentní hranice spolehlivosti (konfidenční limity, confidence lines – tzn., že s 95% pravděpodobností se hledaná veličina nachází mezi těmito hranicemi) pro jednotlivé hodnoty. Model uvažuje závislost účinku na třech parametrech: koncentraci, době expozice a pohlaví exponovaných jedinců. Výpočty však lze provádět jen za použití dvou faktorů – koncentrace a doby expozice.



**Obrázek 14: Pracovní obrazovka programu DoseResponseBeta2006**

## Zobrazení regresních křivek pro chlorovodík a ethylenimin

Výstupy programu DoseResponseBeta2006 jsou pouze v textové podobě (viz příloha č. 3), a navíc umožňuje jen získání jednotlivých hodnot (koncentrace, času nebo účinku). Pro zobrazení a výpočet regresních přímek byl použit tabulkový editor programu Microsoft Excel. Za pomoci výstupů z programu DoseResponseBeta2006 byly určeny krajní hodnoty koncentrací a vypočten účinek. Jelikož zobrazení ve třech rozměrech pro zohlednění závislosti účinku na koncentraci a času, by bylo značně nepřehledné, pro jednoduchost je použito zobrazení pouze jako závislost dvou hodnot, a to koncentrace a účinku pro určený čas. Pro zobrazení hranic spolehlivosti byly pak hodnoty vypočteny podle vzorce uvedeného v dokumentu [25]:

$$Y \pm t\sqrt{\text{var}(Y)} = \beta_0 + \beta_1 \ln(C) + \beta_2 \ln(T)$$

$$[\beta_0 - Y + \beta_1 \ln(C) + \beta_2 \ln(T)]^2 - t^2 \text{var}(Y) = 0$$

$$t^2 \text{var}(Y) = t^2 \{ \text{var}\beta_{00} + 2\text{covar}\beta_{01} \ln(C) + 2\text{covar}\beta_{02} \ln(T) + \text{var}\beta_{11} [\ln(C)]^2 + 2\text{covar}\beta_{12} \ln(C) \ln(T) + \text{var}\beta_{22} [\ln(T)]^2 \}$$
(23)

kde

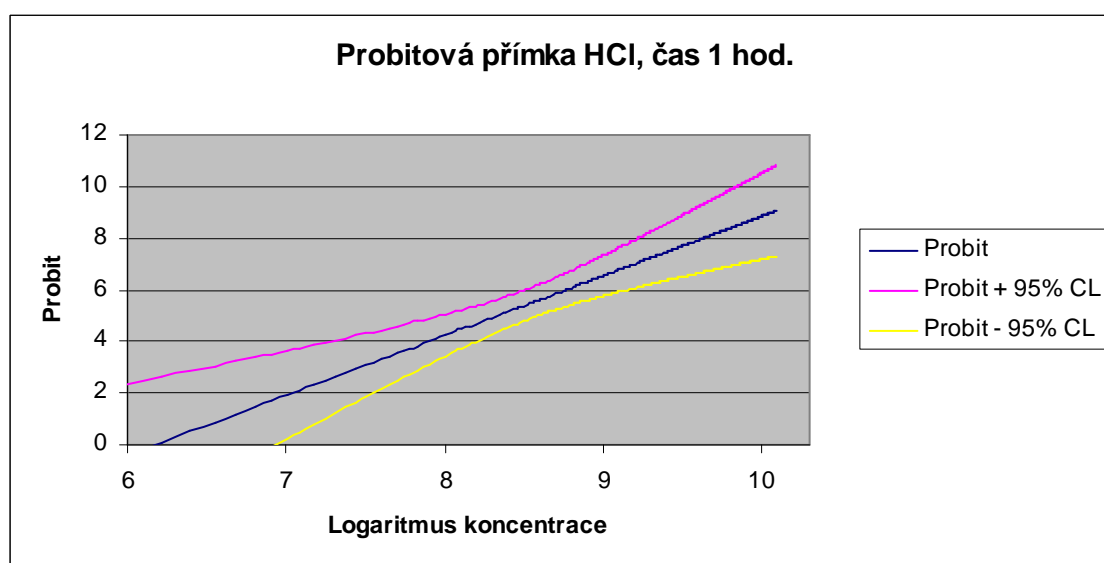
Y = probit

t = kritická hodnota t-rozdělení pro n stupňů volnosti

C = koncentrace [mg/m<sup>3</sup>]

T = doba expozice [min]

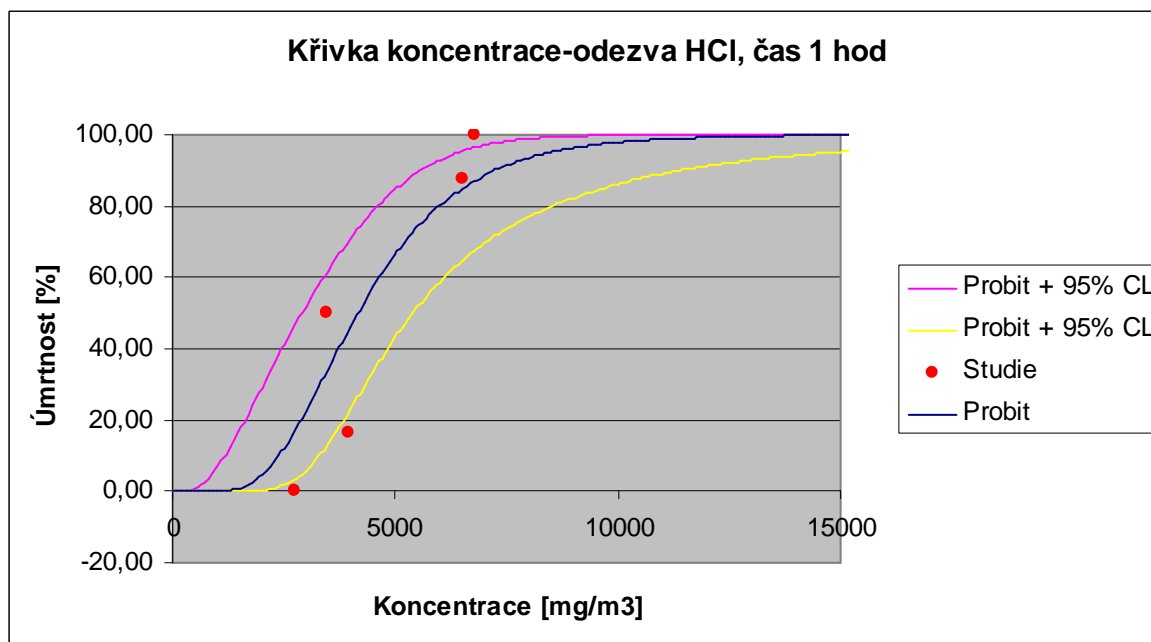
$\beta_0, \beta_1, \beta_3$  = regresní koeficienty



Obrázek 15: Probitová přímka HCl



Na obrázku 15 je zobrazená probitová přímka, vzniklá regresí z experimentálních dat. Přímka je zobrazena na transformované stupnici, kdy na ose x je uveden logaritmus koncentrace a na ose y probit. Převedeme-li tuto stupnici na dekadickou, probitová přímka se nám transformuje na křivku. Na rozdíl od metametrického zobrazení, probitová křivka dle rovnice č. (18) začíná i končí v nekonečnu (viz obrázek 15), v dolní části se limitně blíží k nule, v horní části k 100%. (viz obrázek 16). Na obrázku jsou zároveň zobrazeny hodnoty koncentrací a účinků získané z experimentálních dat.



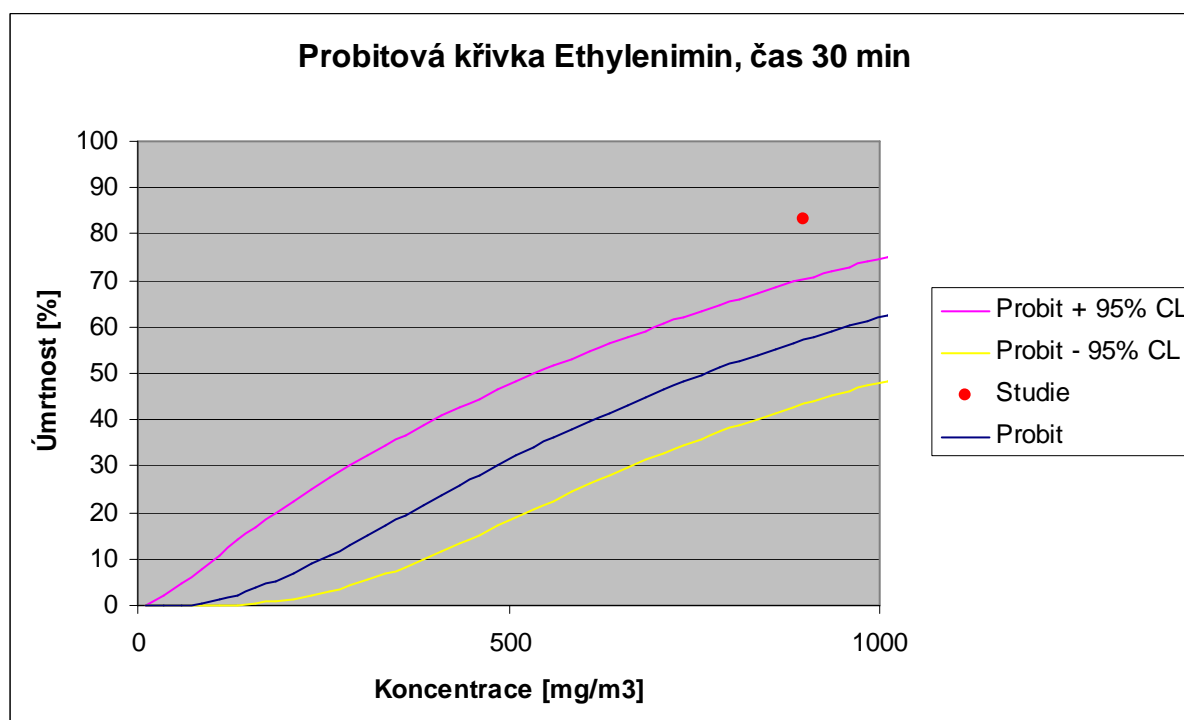
Obrázek 16: Křivka dávka účinek pro HCl

Spojité funkce, kterou z probitové rovnice ve skutečnosti získáme, je ovšem vyjádřena třemi veličinami, a měla by být zobrazena ve třech rozměrech. Pro zjednodušení je zde zobrazena pouze ve dvou jako závislost procentuální odezvy na koncentraci. Ve skutečnosti má, při použití metametrické stupnice tvar plochy, při použití standardních jednotek esovité plochy. Na obrázku 17 je zobrazena křivka pro ethylenimin s detailnějším pohledem na nižší procentuální hodnoty.

Tabulka 5: Hranice spolehlivosti pro hodnoty vypočtené z probitové rovnice získané metodou maximální věrohodnosti ze studie na zvířatech pro HCl

Koncentrace [mg/m <sup>3</sup> ]	Doba expozice [min]	Úmrtnost [%]	95 % dolní hranice spolehlivosti [%]	95 % horní hranice spolehlivosti [%]
1522	60	1	0	17,9
2043	60	5	0,27	30,38
2391	60	10	1,14	38,69
2893	60	20	6,61	50,04
3318	60	30	10,17	58,84
4162	60	50	26,24	73,74

V tabulce 5 jsou uvedeny hodnoty pro spodní a horní 95 % hranice spolehlivosti, pro koncentrace s očekávaným účinkem. Tyto hranice spolehlivosti se váží k datům studie, ze které byly vypočteny konstanty probitové funkce. Můžeme si všimnout, že přestože největší číselný rozsah je kolem 50% hodnoty, největší rozdíl vztažený k násobku vztahované hodnoty je v krajních hodnotách. Zatímco hranice v 50% představují polovinu, resp. jeden a půl násobek hodnoty, u hranic v okolí jednoho procenta se jedná v jednom případě o 0 (vyjádřeno tak malým číslem, že může být považováno za nulu) na druhé straně 17-ti násobek dané hodnoty.



Obrázek 17: Probitová křivka Ethylenimin

Další grafy zobrazující probitové přímky a křivky dávka odezva pro chlorovodík a ethylenimin jsou zobrazeny v přílohách č. 6 a 7.

### 3.2.2 Výpočet probitových konstant pro čpavek

Tento způsob výpočtu vychází z metody publikované v dokumentu Green Book (1989) v současnosti je považován za zastaralý. V tomto případě je určování křivek dávka – účinek a zobrazování hranic spolehlivosti neúčelné, protože k výpočtu konstanty  $n$  je použit průměr všech získaných hodnot, a proto nelze jednoznačně určit studii, ze které bylo vycházeno.

Při výpočtu byla nejprve provedena rešerše všech publikovaných a stanovených probitových funkcí (viz tabulka 6). Konstanta  $n$  je poté vypočtena prostým aritmetickým průměrem všech nalezených hodnot.

**Tabulka 6: Seznam publikovaných probitových funkcí pro čpavek (ze studií na zvířatech) a jejich zdrojů[23]**

n	a	b	druh	zdroj
2,02	-80,03	2,30	Krysa samec/samice	Berge, Zwart, Appelman (1986) [26]
1,93	-125,68	3,71	Krysa samec/samice	Berge, Zwart, Appelman (1986) [26]
2,14	-103,41	2,76	Krysa samec/samice	Berge, Zwart, Appelman (1986) [26]
2,06	-95,64	2,89	Myš	Berge, Zwart, Appelman (1986) [26]
1,36	-27,26	2,27	Myš	Perry, W.W., Articola W.J., Study to jodidy tehe vulnerability model of the risk managment systém. CG-D-22-80, US Coast Gard, Washington DC, 1980
2,75	-49,03	2,205		Canvey – an investigation of potential hazards from operations in the Canvey Island/Thurrock area. Health and Safety Executive HMSO, London 1978
2,0	-34,58	1,91	Krysa	Risk analysis of six potentially hazardous industrial object in the Rijmond area. A pilot study Reidel Publishing Copany. Dordrecht, Holland. 1982.
2,02	-47,8	2,30		L.M Appelman, W.ten Berge, P.G.J. Reuzel: Acute inhalation toxicity of amonia in rats with variable exposure periods. American Industrial Hygiene Journal, 1982.

Zároveň je provedena rešerše publikovaných hodnot  $LC_{50}$  (viz tabulka 7). Z nich je podle výše uvedeného postupu, za použití faktorů nejistoty vypočtena hodnota  $LC_{50}$  pro člověka. Jak je uvedeno v metodě, pokud je hodnota  $LC_{50}$  počítána z více jak jedné studie, je výsledná hodnota zdvojnásobena. Průměrná hodnota je dále extrapolována pomocí faktoru,  $f_d$ .

**Tabulka 7: Seznam hodnot  $LC_{50}$  (ze zvířecích studií) publikovaných pro čpavek [23]**

Druh	Čas exp./ $LC_{50}$ [ $mg/m^3$ ]	n	30 min $LC_{50}$ [ $mg/m^3$ ]		Výsledná hodnota $LC_{50}$ [ $mg/m^3$ ] člověk
			zvíře	člověk	
Krysa	1 hod/2971	2,06	4159	2080	6164
Myš	1 hod/11590	2,02	16335	4084	

Podle metody obsažené ve staré verzi Green Book je potom stanovena konstanta  $b$ , standardně vždy jako hodnota 1. Konstanta  $a$  je vypočtena dosažením získaných hodnot do rovnice (19). Výsledná rovnice pro čpavek má potom tvar:

$$Pr = -15,8 + 1 * Ln(C^2 \times t) \quad (24)$$

### 3.2.3 Popis jiných způsobů výpočtu probitových konstant

#### Propylamin

V dokumentu TGD jsou zmiňované 4 studie poskytující různé hodnoty  $LC_{50}$ . Jelikož si však neodpovídají, a nejsou k dispozici žádná další data, není žádná z nich použita k vývoji probitové funkce. Existuje však hodnota LBW (pro jednu hodinu)  $500 \text{ mg/m}^3$  publikovaná v literatuře [33]. Tato hodnota je použita pro odvození probitové funkce. Jsou použity standardní hodnoty pro konstanty  $b$  a  $n$ . Pro  $n$  je to 2 a pro  $b$  1. Konstanta  $a$  je poté vypočtena dosazením do rovnice (19), kdy se hodnota LBW, která určuje hodnotu koncentrace, pod kterou se neočekává úmrtí jedinců, dosadí jako  $LC_{01}$ , tedy  $Pr = 2,67$ .

$$\begin{aligned} a &= 2,67 + 1 * Ln(500^2 \times 60) \\ a &= -13,9 \end{aligned} \quad (25)$$

Probit funkce pro propylamin má potom tvar

$$Pr = -13,9 + 1 * Ln(C^2 \times t) \quad (26)$$

#### Toluen-diisokyanát

Pro účely stanovení probitových konstant pro diisokyanát není dostupná žádná dostatečně spolehlivá studie. K dispozici je pouze jediná publikovaná hodnota  $LC_{50}$  (1 hodina) pro krysu. Při zohlednění tohoto faktu je poté použit faktor dvě při extrapolaci ze zvířecích dat na člověčí z důvodu neadekvátního množství dat. Pro konstantu  $n$  je stanovena standardní hodnota 2. Konstanta  $b$  je vypočtena jako  $n / 2 = 1$ . Konstanta  $a$  je vypočtena dosazením hodnoty  $LC_{50}$ , extrapolované na člověka, do rovnice (19).

#### Fluor

Pro výpočet probitových konstant pro fluor je použita hodnota  $LC_{50}$  na krysách. Jsou uvedeny další studie, které udávají podobné výsledky. Konstanta  $n$  je použita ze stejné studie, jelikož však jsou výsledky experimentu publikovány pouze jako soubor hodnot  $LC_{50}$  pro různé koncentrace a doby expozice, je konstanta  $n$  vypočtena z těchto hodnot. Proto nelze pro tuto látku zobrazit hranice spolehlivosti. Konstanty  $a$  a  $b$  jsou vypočteny obdobným způsobem jako u výše uvedených látek.

## 4 Diskuze

Probitovou funkci, tak jak je používána pro účely AHR při úniku nebezpečné chemické látky, můžeme chápat jako nástroj, který popisuje nebezpečné vlastnosti dané látky dvojitým způsobem.

První způsob udává koncentraci, která pro danou látku při působení na určitý počet lidských jedinců, vyvolá jistý účinek v podobě smrti určité části vystaveného počtu jedinců. Tento způsob je obsažen v možnosti výpočtu koncentrace  $LC_{50}$ . Druhý způsob spočívá v popsání rozsahu účinku a vzájemných vztahů mezi faktory (čas a koncentrace) ovlivňujícími účinek. Tento způsob je dále vyjádřen v možnosti výpočtu účinků pro jakoukoli koncentraci a dobu expozice, konkrétně v samotné hodnotě exponentu  $n$ .

Tento nástroj je pouze modelem a jako takový má svoje omezení. V první řadě je vhodné zaměřit se na okrajové podmínky. Jak vyplývá z teorie, probit (a s ním související procentuální účinek) je odvozen z normálního rozdělení, a proto může být vypočten pro každou hodnotu od  $-\infty$  do  $+\infty$ . Při použití v praxi bez pečlivého uvážení může neomezená aplikace modelu vést k naprosto nesmyslným výsledkům (např. účinek při záporných koncentracích). Omezení krajních podmínek musí v takovém případě být jasné ze samotného popisu modelu.

Matematický aparát a softwarové programy sice umožňují výpočet nízkých hodnot, např. 0,1%, ale v samotné metodě autoři používají pouze tabulku 1 k vyjádření pravděpodobnosti 1 – 99%, tedy odpovídající hodnotě probitu 2,67 – 7,33. V dokumentech TGD [29] k nově vyvíjeným hodnotám je sice pro srovnání s jinými limity akutní toxicity počítána koncentrace  $LC_{0,1}$ , avšak její použití se nejeví jako optimální. Použití  $LC_{01}$  jako spodní hranice při výpočtu koncentrace nebezpečné látky způsobující procentuelní odezvu, a její chápání jako odhadu prahové hodnoty, odpovídá i přístupu při vývoji AEGL. Toto je patrné z obrázku 13, pokud si odpovídají hodnoty AEGL-3 a hodnoty vypočtených probit funkcí, jedná se u probitové funkce o  $LC_{01}$  spíše než o  $LC_{0,1}$ .

Další omezení použití okrajových hodnot plyne z teorie, která se zabývala nejistotami spojenými s existencí vnímavých nebo extrémně odolných jedinců v dané populaci (Trevan, kap.2.1.4). Z těchto předpokladů pak vychází používání krajních hodnot, a to i  $LC_{01}$  jako velmi nepřesné. Avšak pro účely AHR je informace v krajních hodnotách velice důležitá. Současně je třeba si uvědomit, že při absenci jiných nástrojů, patří určení odhadů prahových hodnot pro účinek smrt pomocí probitové analýzy k nejlepším dostupným možnostem. Tento fakt zároveň potvrzuje přístup AEGL ke stanovení hodnot AEGL-3, který používá prakticky

stejný postup. Jak je patrné z grafu na obrázku 13 a z kapitoly 3.1.3, hodnoty  $LC_{01}$  a AEGL-3 si v některých případech odpovídají, a pokud jsou rozdílné, rozdíly pramení převážně z použití různých faktorů nejistoty.

Důležité je podotknout, že limity AEGL-3 slouží primárně k určení prahové hodnoty (obecně – vyjadřující koncentraci, která nezpůsobí smrt), a za tímto účelem jsou také vyvíjeny – nemusí tedy zohledňovat účinek při vyšších koncentracích. A stejně tak není ani účelem probitové funkce stanovení jednoznačné prahové hodnoty.

Určování probitových konstant tak, aby mohla být používána pro určování procentuální úmrtnosti v případě úniku toxické látky, s sebou nese během celého procesu vývoje vznik velkého množství nejistot.

První nejistota plyne již ze samotného použití modelu. Logaritnicko-normální rozdělení slouží k popisu velkého množství různých dějů (např. doba přežití po diagnóze rakoviny, znečištění ovzduší, délka mluvených slov) uvedených v literatuře [31]. Jak předpokládá Bliss a Finney [2], slouží zároveň k popisu vztahu dávka odpověď u toxických účinků insekticidů, léčiv, vitamínů a toxických látek. Obecně však aplikace tohoto modelu na tak rozsáhlý problém, jako je inhalační expozice populace zasažené únikem toxické látky, neověřitelná, a tedy i jeho platnost je v takovém případě pouze předpokladem. Experimenty pro ověření správnosti modelu jsou prakticky nemožné, a z reálných situací lze získat jen velmi omezená data. Proto při takovéto expozici může být účinek zasažené populace výrazně ovlivněn faktory, které v sobě model pro své zjednodušení neobsahuje.

Další nejistota je určena přímo zpracováním experimentálních dat. V celém procesu vývoje konstant se jedná o jedinou část, kdy může být nejistota u některých látek vyjádřena pomocí statistického aparátu. Jsou-li konstanty probitové funkce určeny přímo ze souboru experimentálních dat z pokusu na zvířatech, poskytuje statistický aparát možnost zobrazit takzvané hranice spolehlivosti nebo konfidenční limity (viz, kap. 2.2.1). Každá hodnota, vypočtená na základě rovnice s koeficienty zjištěnými regresí, může být udávána v určitém intervalu určující spolehlivost dané hodnoty. V grafech na obrázcích 15, 16 a 17 a grafech uvedených v přílohách 6 a 7, jsou na vytvořených příkladech tyto hranice zobrazeny. Jak je patrné, nejistoty plynoucí z tohoto zpracování jsou značné. Přestože koeficienty probitové funkce jsou dále ovlivňovány, případně jiným způsobem upravovány, nesou si v sobě současně nejistoty, které vznikly při zpracování původních experimentálních dat.

Nejistota plynoucí ze zpracování toxikologických dat silně závisí na počtu testovaných jedinců a na rozložení jejich tolerance. Pro některé látky, jejichž konstanty jsou založeny na rozsáhlejších studiích, může být přesnost pro menší procentuální účinek větší, než u vyššího

procentuálního účinku u jiných látek, založených na studiích s menším počtem dat. Samotná povaha testů neumožňuje jejich velkou přesnost, nechceme-li zahubit nepřiměřené množství zvířat. Proto je důležité si tuto nejistotu uvědomovat, především pak při aplikaci výsledků, například při AHR.

Faktem je, že výsledná probitová funkce prochází ještě dalšími úpravami. Především celkové posunutí plochy díky použití faktoru nejistoty (změna konstanty  $a$ ) a změna sklonu z důvodu aplikace pravidla  $b \times n = 2$ . Ovšem pokud už ze samotného statistického zpracování vycházejí např. pro 20 % úmrtí hranice spolehlivosti mezi 6 - 50% (tabulka 6), nelze potom považovat přesné hodnoty výsledku dosahů účinku uvedených v dokumentu AHR za exaktní.

Při transformaci ze zvířecích hodnot na hodnoty použitelné pro člověka vzniká největší nejistota a to především proto, že vzájemný vztah při převodu je dosud velmi nejasný. Tato skutečnost je způsobena tím, že nejsou k dispozici dostatečná data, především pro lidskou inhalační toxicitu. Při transformaci zvířecích dat na lidská jsou používány faktory nejistoty, které spíše než aby přesným způsobem zobrazily skutečné vztahy, mění pouze hodnoty konstant získaných z experimentálních dat. A to tak, aby posunuly probitovou plochu na hranici, o které se předpokládá, že bude odpovídat účinku v lidské populaci. Jelikož tyto faktory nejistot snižují hodnotu  $LC_{50}$ , tedy posunutí probitové plochy většinou několikanásobně, nejistoty plynoucí z tohoto zpracování jsou značné. Volba různých faktorů nejistoty má velmi podstatný vliv na výsledné hodnoty – jak je ukázáno v grafech na obrázcích 12 a 13.

Určitá nejistota plyne také z rozdílů uvnitř populace. V probitové funkci je tento rozdíl ošetřen použitím pravidla  $b \times n = 2$ , které je použité bez ohledu na konstantu  $b$  vypočtenou ze zvířecích dat. Jak uvádí ve své práci Berge [27], použití tohoto pravidla zajišťuje konzervativnější přístup k určení rozsahu koncentrací – v praxi to znamená, že rozsah mezi hodnotami způsobujícími hraniční účinek (1 – 99%) je obecně větší.

Dále je důležité si uvědomit to, že probitová funkce může být stanovována různými způsoby. Jak je rozebíráno v praktické části této práce, výpočet konstant je v některých případech prováděn jen s minimálním množstvím dat. Z takovýchto dat nelze potom žádným způsobem vypočítat hranice spolehlivosti. Probitová funkce se potom v několika případech stává pouze sofistikovaným odhadem, na základě minimálních dat a předpokladu obecného fungování určitých pravidel (použití standardních konstant  $b = 1$  a  $n = 2$ ). Pro chemické látky, pro které nejsou k dispozici žádné další informace, se opět jedná o nástroj, který může být užitečný, nicméně je třeba uvědomovat si všechna jeho omezení.

Ve světové literatuře lze narazit na více probitových funkcí pro stejné chemické látky, avšak s různými hodnotami. Jak je zobrazeno v grafu na obrázku 11 a v tabulce 4, tvary výsledných křivek (ploch) a z nich plynoucích i jednotlivých hodnot se často výrazně liší. Jelikož hodnoty publikované v Nizozemsku a to jak v rámci TNO (starší) tak v rámci RIVM (novější), jsou podepřeny poměrně exaktní metodou, popisem zdrojových dat a postupu vývoje, lze na ně pohlížet jako na spolehlivější. Co se týče samotných probitových funkcí poskytovaných nizozemskými orgány, srovnání v grafu na obrázku 12 ukazuje, že při srovnání vypočtených hodnot  $LC_{01}$  a AEGL-3 vycházejí ve většině případů hodnoty koncentrací pro probitové funkce vyšší. Takže v případě konstant publikovaných v Purple Book [8] můžeme hovořit o jistém podhodnocení. Srovnání novějších hodnot již neukazuje žádný jasně viditelný trend. Obecně lze říci, že je vždy vhodnější používat nověji vyvinuté konstanty. V době zpracování této práce (duben 2010) jsou konstanty nových probitových funkcí v dílčích fázích vývoje, takže lze očekávat jejich další zpřesňování. Je možné také očekávat další vlnu vývoje konstant. V souvislosti s různými hodnotami konstant považuje autor za důležité upozornit na rozdílnost plynoucích z používání jiných jednotek. V USA jsou koncentrace nebezpečných látek udávány obvykle v ppm, v Nizozemsku jsou běžně používány koncentrace v jednotkách  $mg/m^3$ . Pro použití různých koncentrací musí být probitová funkce přepočtena (viz příloha č. 4), jinak může dojít ke vzniku významných chyb.



## 5 Závěr

V diplomové práci byl rozebrán teoretický základ probitové analýzy pro účely stanovení úmrtnosti na základě vystavení koncentraci nebezpečné látky. Byl proveden teoretický rozbor řešené problematiky s deskripcí mezinárodních přístupů a metody poskytované nizozemskými institucemi. Dále byl proveden ucelený přehled mezinárodních přístupů při stanovování faktorů nejistoty.

V praktické části byla zpracována kritická analýza existujících probitových funkcí. Na případových studiích byl zobrazen postup vývoje konstant těchto funkcí a současně bylo poukázáno na nejistoty plynoucí z jejich vývoje a použití. Za pomoci dostupných dat a softwaru byly znázorněny nejistoty, vycházející již ze samotného zpracování experimentálních dat. Další nejistoty byly diskutovány.

Při srovnání s existujícími limity akutní toxicity (AEGL) byla nalezena rámcová shoda v metodice a v některých hodnotách. Dílčí rozdílnost byla vysvětlena různým způsobem použití faktorů nejistoty.

Autor doporučuje použití probit funkcí v AHR, ovšem pouze za předpokladu jasného uvědomění si omezení a nedostatků této metody. Především, při použití této metody, je důležité si uvědomit, že procentuální odezva, která z probitové funkce jasně vychází, je zatížena značnou nejistotou a pohybuje se uvnitř širokých hranic spolehlivosti. Stanovování účinku menšího než 1 % a většího než 99 % z probitové funkce vycházející z 50 % procentní letální koncentrace není vhodné. Z teorie je možné usuzovat, že probitová funkce může být stanovena pro jakýkoli účinek, tedy například je možné určit  $EC_{50}$  pro nevratné účinky a vypočítat konstanty pro výpočet procentuální odezvy v zasažené populaci. V praxi je ovšem tato možnost omezena naprosto neadekvátním množstvím dat. Používat probitovou funkci s konstantami publikovanými pro smrtící účinek v k výpočtu jiného účinku než smrti není možné.

Probitová analýza je exaktní metodou, se systematicky definovaným postupem. V důsledku toho jsou výsledky získané použitím této metody, přinejmenším srovnatelné. Přesto v sobě nese podstatné nejistoty, které je při interpretaci výsledků mít na zřeteli. Ty ovšem nelze v současné době, vzhledem k nedostatečnému stupni lidského poznání, nemožnosti získat potřebná data a chybějícím znalostem principu některých dějů, odstranit. Větší přesnost by musela být podmíněna prováděním experimentů, které nejsou z mnoha hledisek obhajitelné.

*Tato diplomová práce vznikla v rámci aktivit projektu VaV SPIIIa10 45/07.*

## 6 Seznam použité literatury

- [1] MINISTERIE VAN VROM. *Publicatiereeks Gevaarlijke Stoffen 1.: Methoden voor het bepalen van mogelijke schade ('Geen book')*, 2005.
- [2] FINNEY D.J. (1971) *Probit Analysis*. Cambridge University Press, Cambridge, 3rd ed.
- [3] *Bijbehorende RIVM producten Databases - Afleiding en vaststelling van probitrelaties*: [online]. 2006 [cit. 2010-02-10]. Dostupný z WWW:  
<http://www.rivm.nl/milieuportaal/bibliotheek/databases/probitrelaties.jsp>
- [4] Centre for External Safety (RIVM/CEV): *Amendments to the methodology for the derivation of probit functions*, 2009, Dostupný z WWW:  
<<http://www.rivm.nl/milieuportaal/images/Amendments%20to%20the%20methodology%20for%20the%20derivation%20of%20probit%20functions091109.pdf>>
- [5] SCHUBACH, Simon . *Comparison of probit expressions for the prediction of lethality due to toxic exposure*. Journal of Loss Prevention in the Process Industries. 1995, vol. 8, is. 4, s. 197-204.
- [6] VINCENT, Kim. Probit analysis. [s.l.] : [s.n.], [2008]. 8 s. Dostupný z WWW:  
<<http://userwww.sfsu.edu/~efc/classes/biol7110/probit/ProbitAnalysis.pdf>>.
- [7] LEES, F.P. *Loss prevention in the Process Industries*. Reed Educational and Professional Publishing Ltd., 1996. ISBN 0 7506 1547 8. 1302s.
- [8] P.A.M. Uijt de Haag. B.J.M. Ale. *Guideline for quantitative risk assessment (Purple Book)*. The State Secretary of Housing Spatial Planning and the Environment (VROM), 2005. 237s.
- [9] Česko. *Zákon ze dne 2. února 2006 o prevenci závažných havárií způsobených vybranými nebezpečnými chemickými látkami nebo chemickými přípravky ve znění pozdějších předpisů: o prevenci závažných havárií*. In •Sbírka zákonů, Česká republika. 2006, roč. 2006, částka 25, č. 59, s. 842. Dostupný také z WWW:  
<<http://aplikace.mvcr.cz/archiv2008/sbirka/2006/sb025-06.pdf>>. ISSN 1211-1244.
- [10] *Guidelines for Chemical Process Quantitative Risk Analysis (CPQRA)*. USA: Center for Chemical Process Safety/AIChE, 2003. ISBN 0-8169-0720-X. 800s.
- [11] SEVESO II direktiva Directive of the European Parliament and of the Council amending Council Directive 96/82/EC of 9 December 1996 on the control of major-accident hazards involving dangerous substances, 2001/0257 (COD), Brussels 2001
- [12] Výzkumný ústav bezpečnosti práce, v.v.i.. *Výkladový terminologický slovník některých pojmů používaných v analýze a hodnocení rizik pro účely zákona o prevenci závažných*

- havárií* [online]. Aktualizované vydání. Praha : 2005 , 28.3.2008 [cit. 2008-03-30].  
Dostupný z WWW: <[http://www.vubp.cz/html\\_oppzh/metodiky/vykladovy\\_slovník\\_brezen05.pdf](http://www.vubp.cz/html_oppzh/metodiky/vykladovy_slovník_brezen05.pdf)>
- [13] Subcommittee on Acute Exposure Guideline Levels, Committee on Toxicology, Board on Environmental Studies and Toxicology, National Research Council. *Standing Operating Procedures for Developing Acute Exposure Guideline Levels for Hazardous Chemicals*. Washington D.C. : The National Academies Press, 2001. 224 s. ISBN 978-0-309-07553-4
- [14] BLAŽKOVÁ, Kateřina. Analýza rizik a ochrana obyvatelstva v zónách ohrožení úniky nebezpečných látek. In ŠENOVSKÝ, Michail. *Ochrana obyvatelstva 2010 : IX. ročník mezinárodní konference*. Ostrava: Sdružení požárního a bezpečnostního inženýrství, 2010. s. 49-57. ISBN 978-80-7385-080-7, ISSN 1803-7372
- [15] BAUDIŠOVÁ, Barbora; DANIHELKA, Pavel; DOBEŠ, Pavel. *Kritická analýza stanovování zón havarijního plánování*. Spektrum. 2008, roč.8, č.1, s. 19-22. ISSN 1211-6920.
- [16] COUNCIL DIRECTIVE 96/82/EC: of 2006 METHODOLOGY TO DEVELOP AETLs. ACUTEX. ACUTEX. January 2006. 162 s.
- [17] Vyhláška č. 103/2006 Sb., o stanovení zásad pro vymezení zón havarijního plánování a o rozsahu a způsobu vypracování vnějšího havarijního plánu, ve znění pozdějších předpisů. Sbírka zákonů ČR. Částka 36.
- [18] *Manual for the classification and prioritization of risks due to major accidents in process and related industries*. (IAEA-TECDOC-727). Vienna: International Atomic Energy Agency, 1996.
- [19] Zákon č. 239/2000 Sb. o integrovaném záchranném systému a o změně některých předpisů, ve znění pozdějších předpisů
- [20] DLABKA, Jakub. *Určení koncentrací nebezpečných chemických látek v zónách havarijního plánování*. Ostrava, 2008. 52 s. Bakalářská práce. VŠB-TUO.
- [21] BAUDIŠOVÁ, Barbora; DANIHELKA, Pavel. *Limity akutní toxicity a jejich využití při prevenci závažných havárií*. 22 s. Oponovaná práce. VŠB - Technická univerzita Ostrava, Fakulta bezpečnostního inženýrství. IGS s identifikačním číslem 023/2101/BI0238021
- [22] BAUDISOVA, Barbora; DANIHELKA, Pavel; MICEK, Dalibor. *Evaluation of acute toxicity limits for purposes of risk analysis in the Czech Republic*. In BRIŠ, Radim; GUEDES SOARES, Carlos; MARTORELL ALSINA, Sebastián (eds.). Reliability,

- Risk and Safety: Theory and Applications, September 7-10, 2009, London, Taylor & Francis Group, 2010. s. 911-916. ISBN 978-0-415-55509-8
- [23] CPR (1990) *Methoden voor het bepalen van mogelijk schade aan mensen en goederen door het vrijkomen van gevaarlijke stoffen* (Green Book). Hoofdstuk 5: Schade door acute intoxicatie. Commissie Preventie van Rampen door Gevaarlijke Stoffen (CPR), ISBN 90-5307-052-4, Voorburg.
- [24] BERNATÍK, Aleš; *Prevence závažných havárií II.*, 1. vyd. Ostrava: Sdružení požárního a bezpečnostního inženýrství, 2006; ISBN 80-86634-90-6.
- [25] BERGE, Will ten. *Homepage of Will ten Berge* [online]. 2006 [cit. 2010-03-18]. Concentration-time response in acute inhalation toxicity. Dostupné z WWW: <<http://home.planet.nl/~wtberge/doseresp.html>>.
- [26] BERGE, W. ten; ZWART, A.; APPELMAN, L.M. *Concentration-time mortality response relationship of irritant and systemically acting vapors and gases*. 1986. Journal of Hazardous Materials. vol.13, pg:301- 309, 1986
- [27] BERGE, Will ten. *Arguments for keeping the product of exponent x slope (n x b) at a fixed value of 2 for all probit equations predicting mortality in humans*, 1993, DSM, Geleen
- [28] DRBOHLAV, Ondřej. *Odhad metodou maximální verohodnosti a Bayesuv odhad* [online]. 2001 [cit. 2010-04-18]. Dostupné z WWW: <[http://cmp.felk.cvut.cz/cmp/courses/recognition/Lab\\_archive/RPZ\\_01-02w/MLnew/bay.pdf](http://cmp.felk.cvut.cz/cmp/courses/recognition/Lab_archive/RPZ_01-02w/MLnew/bay.pdf)>.
- [29] RIVM *Milieuportaal* [online]. 2009 [cit. 2010-02-18]. Probitwaarden-verzamellijst-Technical-support-documents. Dostupné z WWW: <<http://www.rivm.nl/milieuportaal/onderwerpen/veiligheid/externe-veiligheid/Probitwaarden-verzamellijst-Technical-support-documents.jsp>>.
- [30] RIVM *Milieuportaal* [online]. 2009 [cit. 2010-02-18]. Afleiding en vaststelling van probitrelaties. Dostupné z WWW: <<http://www.rivm.nl/milieuportaal/bibliotheek/databases/probitrelaties.jsp>>.
- [31] LIMPert, E.; STAHEL, W. A. *Life is log-normal!* E. Limpert ETH Zurich, Last modified: 13.11.2002. Dostupné na www: <http://www.inf.ethz.ch/personal/gut/lognormal/brochure.html>.
- [32] TREVAN, J.W. *The error of determination of toxicity*. Proc. Roy. Soc. B, 101, 483-514

[33]Nederlands Instituut Fysieke Veiligheid Nibra. *Werken voor Veiligheid* [online].  
[2000] , 21.4.2008 [cit. 2008-03-25]. Dostupný z WWW:  
<<http://www.nifv.nl/web/show/id=45860>>.

## **Seznam obrázků**

Obrázek 1: Schéma bezpečnostní dokumentace .....	6
Obrázek 2:Postup při hodnocení následků na zdraví člověka v důsledku úniku toxické látky do ovzduší .....	7
Obrázek 3: Vyjádření změny tolerance v závislosti na koncentraci – transformace stupnice .	13
Obrázek 4: Závislost procentuelní úmrtnosti na koncentraci – logaritmická transformace ....	14
Obrázek 5: Příklady normálního rozdělení .....	15
Obrázek 6: Rozdíl mezi transformací pomocí normovaného normálního rozdělení a při použití probitu .....	19
Obrázek 7: Probitová transformace .....	19
Obrázek 8: Vztah mezi koncentrací, časem a úmrtností pro čpavek u laboratorní krysy .....	21
Obrázek 9: Vliv vnitrodruhových a mezidruhových transformací na tvar probitové přímky .	24
Obrázek 10: Schéma publikovaných probitových konstant.....	36
Obrázek 11: Rozdíly tvaru křivky dávka účinek při použití různých konstant pro HCl.....	38
Obrázek 12: Rozdíly hodnot vypočtených probitovou funkcí a hodnotami AEGL-3 .....	39
Obrázek 13: Rozdíly hodnot vypočtených probitovou funkcí a hodnotami AEGL-3 .....	40
Obrázek 14: Pracovní obrazovka programu DoseResponseBeta2006.....	43
Obrázek 15: Probitová přímka HCl.....	44
Obrázek 16:Křivka dávka účinek pro HCl.....	45
Obrázek 17: Probitová křivka Ethylenimin.....	46

## **Seznam tabulek**

Tabulka 1: Přepočet probitu na procenta .....	20
Tabulka 2: Faktor $f_d$ pro převod hodnot smrtících koncentrací z různých druhů na člověka .	29
Tabulka 3: Faktory nejistoty při převodech prahových hodnot ze zvířat na člověka .....	30
Tabulka 4: Konstanty probitových funkcí publikované různými institucemi.....	37

Tabulka 5: Hranice spolehlivosti pro hodnoty vypočtené z probitové rovnice získané metodou maximální věrohodnosti ze studie na zvířatech pro HCl .....	45
Tabulka 6: Seznam publikovaných probitových funkcí pro čpavek (ze studií na zvířatech) a jejich zdrojů.....	47
Tabulka 7: Seznam hodnot $LC_{50}$ (ze zvířecích studií) publikovaných pro čpavek .....	47

## **Seznam příloh**

Příloha č. 1: Hodnoty probitových konstant publikovaných institutem RIVM	
Příloha č. 2: Hodnoty probitových konstant publikovaných organizací TNO	
Příloha č. 3: Výstupy programu DoseResponseBeta2006 pro HCl	
Příloha č. 4: Hodnoty probitových konstant publikovaných různými institucemi pro chlor, čpavek a chlorovodík	
Příloha č. 5: Porovnání tvarů křivky dávka-účinek při použití rozdílných probitových konstant pro chlor, čpavek a chlorovodík	
Příloha č. 6: Zobrazení hranic spolehlivosti pro Ethylenimin pro různé doby expozice.	
Příloha č. 7: Zobrazení hranic spolehlivosti pro HCl pro různé doby expozice.	
Příloha č. 8: Srovnání hodnot vypočtených pomocí probitové funkce s limitem akutní toxicity (AEGL-3)	