

化学物質審査規制法に基づく 藻類生長阻害試験法の改正内容について

—OECDテストガイドライン201改訂版—

独立行政法人 国立環境研究所

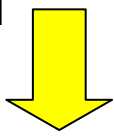
環境リスク研究センター

菅谷 芳雄

OECD藻類生長阻害試験

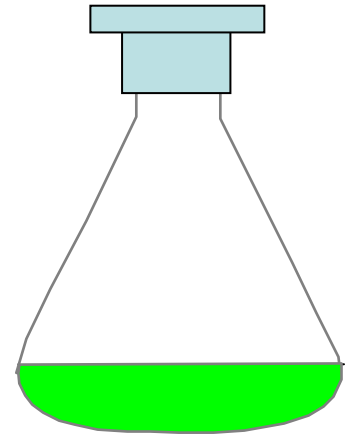
1981	テストガイドライン 201	採択
1984	同	改訂
1997	同 改訂提案 Norway (lead country)	採択
1998-1999	Expert Group meeting	
(2000	ガイダンスドキュメント23	承認)
2000	11月ドラフトTG	発表・回覧
2001	各国コメント、AUG問題	
2002	改訂ドラフト	発表・回覧
2003	WNT15(合意されず) Expert meeting →	最終ドラフト
2004	WNT16	承認
2006	テストガイドライン201改訂	採択

TG201

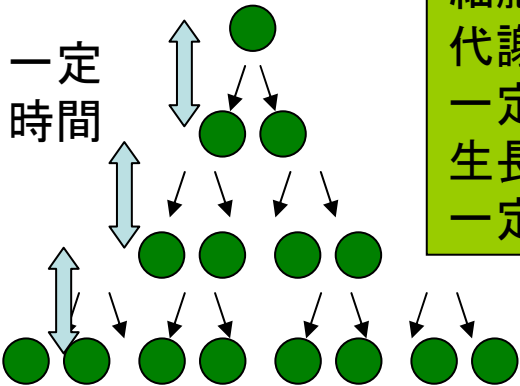


光源

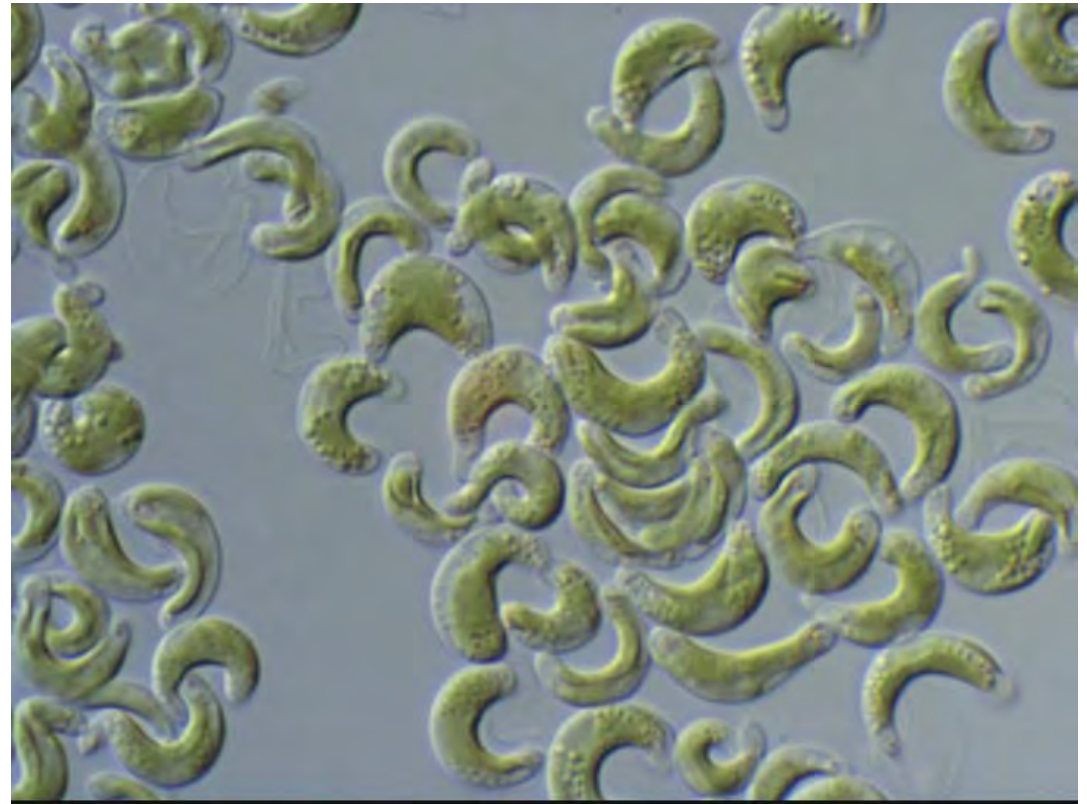
72時間培養



一定時間



細胞1個の代謝速度が一定なら、生長速度も一定



NIES-35 *Pseudokirchneriella subcapitata*

10 μm



生長速度

$$r = \ln(N(72h) / N(0h)) / 3\text{day} = 1.5 (90\text{倍}) \sim 1.8 (225\text{倍})$$

Relationships of growth rate

$$r \approx \frac{1}{T_c} \approx \frac{1}{\text{size}} \approx \text{metabolic_rate} / \text{unit_weight}$$

T_c : generation time

毒性値 ErC50: 生長速度が50%となる、濃度

改訂テストガイドライン201

概要	◎	適用生物種の拡大	
		<i>Pseudokirchneriella subcapitata</i>	分類学上
		<i>Desmodesmus subspicatus</i>	分類学上
		<i>Navicula pelliculosa</i>	新規
		<i>Anabaena flos-aquae</i>	新規
		<i>Synechococcus leopoliensis</i>	新規

◎ GHSとの整合
生長速度法を「科学的に正しい」

◎ ガイダンスドキュメント*との整合
GD23 試験困難物質
GD54 統計処理

* on the OECD's W WW site (<http://www.oecd.org/ehs/>)

試験手順はどう変わるか

妥当性クライテリア

- 1) 平均生長速度
0.92 /day (= 3日間で16倍)
- 2) 対照区における区間(1日当たり)
生長速度の変動係数
35 % 以下
- 3) 対照区の平均生長速度の変動係数
緑藻2種 7 % 以下
その他 10 % 以下

指数増殖期の維持

- Lag phase をなくす
- 試験の短縮 48時間暴露

試験デザイン:
繰り返し数 対照区 6 以上
暴露区 3 以上

- 目的(EC_x か NOEC か)
- 安定した試験結果

※ pH 変動は、0.5 unit 以下.1.5未満に……
ただし、毒性値の信頼性を損なうか？

変動係数の計算例

藻類密度				平均 生長速度	区間生長速度			
0 h	24 h	48 h	72h	0-72h	0-24h	24-48h	48-72h	CV
0.5	4.35	32.1	80.3	1.69	2.16	2.00	0.92	0.4
0.5	4.36	29.4	83.9	1.71	2.17	1.91	1.05	0.34
0.5	3.99	30.4	86.4	1.72	2.08	2.03	1.04	0.34
0.5	3.83	36.55	107	1.79	2.04	2.26	1.07	0.35
0.5	4.11	31.35	91.6	1.74	2.11	2.03	1.07	0.33
0.5	3.57	27.35	90.7	1.73	1.97	2.04	1.20	0.27
平均値				1.73	日間変動係数 (平均)			34 %
標準偏差				0.03				
繰り返し間変動係数				2 %				

最終報告書でのデータの取りまとめ方

化審法TG／テストガイドラインでは、最終報告書に記載する事項を指定している

ただし、重要度には強弱あり……

毒性値そのものに関係する要素

毒性値で政策判断をするため重要.

【判定基準との比較】

毒性発現に関係する要素

ある物質では
試験環境により、毒性発現
は異なる

【特に試験困難物質】

試験の信頼性に関係する要素

Validである事を示し、
行政(規制)判断の
根拠となる.

重点事項は、目的・物性により異なる

毒性値の大小を決める要素：

濃度－反応(率)曲線

モデル(算出方法)の選択

単回帰, プロビット法……

実測平均値／初期実測値／設定値

毒性発現に関係する要素

水温, pH, 水の硬度, TOC, 曝露時間

条件により被験物質の毒性作用(量・質)
が異なる場合がある

毒性値の信頼性を決める要素

暴露の安定性(適切な曝露方式)

被験物質以外の影響の排除

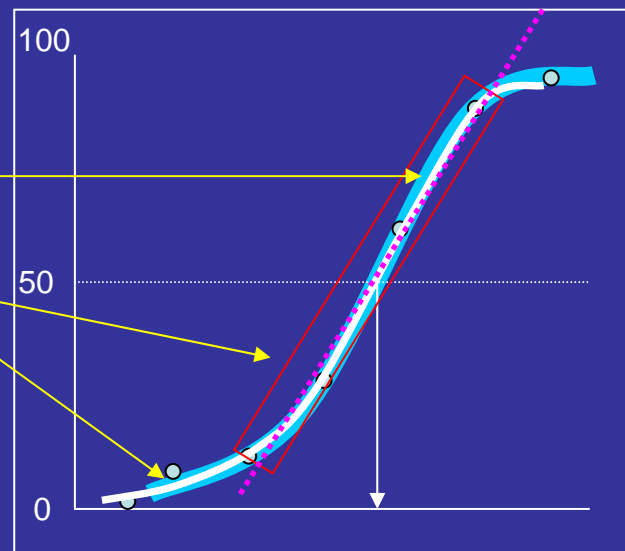
再現性(確認できるデータ)

試験の再生産性(記録)

データの相互承認に係る規定

ガイドライン(試験法)

GLP(内部評価と適合確認)



その他の変更

- 1) 不安定な被験物質濃度は、毎日測定することを推奨
 - 2) pHの変動を抑えることと、その手段
 - 3) 推奨培地(AAP)培地の追加……………OECD培地とは異なる
 - 4) 参照物質として、3,5-Dichlorophenol
 - 5) 試験の適用範囲と試験困難物質の試験法(文献紹介)
-

被験物質濃度の確認

1) 原則として、全ての濃度区の被験物質濃度を実測

2) 試験終了時の > 設定濃度の80% \longrightarrow 設定濃度
被験物質濃度 > 初期実測濃度の80% 初期実測濃度

3) 試験終了時の < 測定限界 \longrightarrow 初期濃度と1/2測定限界の幾何平均
被験物質濃度 < 検出限界 初期濃度と検出限界の幾何平均

* 測定頻度を多くして、減衰曲線から推定曝露濃度の算出

4) 繰り返し間の変動(藻類生長・試験条件:pH.....)が大きい場合

* * 説明のために被験物質濃度を個別測定する事も考慮する.

* (Para.38) should be based on geometric mean concentration during exposure or on models describing the decline of the concentration

(Para.40) adsorption to the increasing algal biomass does not mean that it is lost from the test system

「真の毒性」と「物理・化学的影響」

急性毒性試験法では、
区別しない

酸性物質・塩基性物質
→ TG201では被験物質の影響でpHが変化しても、調整しない。

慢性毒性試験では
区別する

→ 環境の緩衝作用
低レベル曝露を問題にするため、pHを調整



化審法TGでは、pH調整しないが、真の毒性と区別されていれば、考慮する（着色性物質も同じ）。