

生態影響に関する化学物質審査規制／試験法セミナー

# OECDテストガイドラインに係る 動向と今後の見通し

戸田英作

環境省環境保健部環境安全課

OECDテストガイドライン作業グループ議長

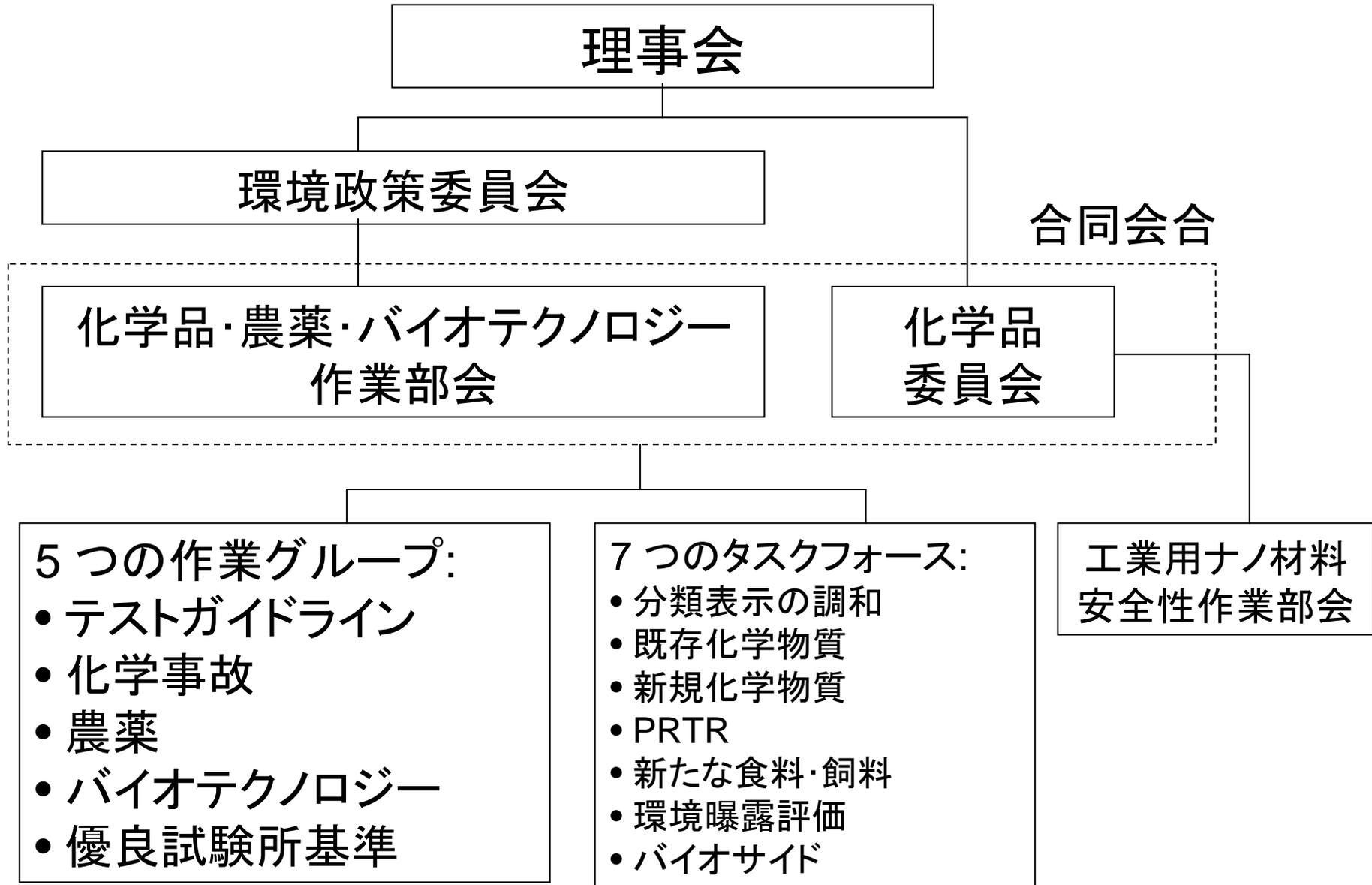
# 経済協力開発機構 (OECD)とは...

- 市場経済の先進国30カ国からなる国際機関
- 経済政策、開発協力、環境保全等を含む幅広い政策を展開するためのフォーラム
- 加盟国代表よりなる理事会及びその下部機関(委員会、作業部会、作業グループ等)により意思決定がなされる

# OECD環境保健安全プログラムの概要

- OECD加盟国が分担し、技術や知識を結集することにより、より良い仕事を迅速に行えるよう創設。  
以下の3つの目的に基づき運営。
  - 実験動物愛護の精神を考慮に入れた上での高品質な化学物質の試験および評価方法の確立
  - 化学物質管理の効率性、有効性の向上
  - 化学物質および化学製品の取引における非関税障壁の最小化
- 環境保健安全プログラムの経緯
  - 1971年 化学品プログラムの設立
  - 1970年代～ 特定の有害化学物質の情報の共有、新規化学物質の評価(試験法・リスク管理方法)の開発
  - 1980年代～ リスク評価方法、リスク管理手法、化学事故の防止等、既存化学物質対策
  - 1990年代～ 農薬、バイオテクノロジーを利用した製品、PRTR
  - 2000年代～ 内分泌かく乱作用、ナノテクノロジー、バイオサイド
- OECD環境安全プログラムは、加盟国政府及び化学産業において、化学物質の試験の重複を避けることにより、少なくとも年間6000万ユーロの経費節約効果があると見積もられている。

# OECD環境健康安全プログラムの組織



# データの相互承認

(Mutual Acceptance of Data、MAD)

- 1981年のデータの相互承認に関する理事会決定により、加盟国政府は、化学品の規制において、テストガイドラインと優良試験所基準 (Good Laboratory Practice、GLP) に合致して他の国で得られた試験データを受け入れなければならないとされている。
- テストガイドラインは、化学物質の物理化学的特性、分解・濃縮性、生態毒性、人への毒性 (哺乳類試験) に関し、国際的に調和した試験法を定めたもの
- GLP 原則への適合は、国際的に調和された手法により、各国により監視されている
- OECD加盟国のほか、イスラエル、スロベニア及び南アフリカが参加。中国、インド、ブラジル等についても交渉中。

# OECDテストガイドライン

- 1981年の理事会決定に約50種のガイドラインを附属書として添付。17回にわたり改正され、現在は約100種
  - － 第1部 物理化学的特性
  - － 第2部 生態毒性
  - － 第3部 残留性及び蓄積性
  - － 第4部 哺乳類への毒性
- 第18回改正案につき、承認手続き中
  - － 嫌気性バクテリアへの毒性試験
  - － 第5部「その他」を新設、農薬残留試験等5種のガイドライン
- OECD事務局が有料で頒布していたが、2007年1月より無料でダウンロード可能となった。

# 生態影響に関するテストガイドライン

- 201 藻類生長阻害試験 (2006/3/23改正)
- 202 ミジンコ類急性遊泳阻害試験  
(2004/4/13改正)
- 203 魚類急性毒性試験(1992/7/17改正)
- 204 魚類延長毒性試験－14日試験  
(1984/4/4採択)
- 205 鳥類摂餌毒性試験(1984/4/4採択)
- 206 鳥類繁殖試験(1984/4/4採択)
- 207 ミミズ急性毒性試験(1984/4/4採択)
- 208 陸生植物生長試験(1984/4/4採択)
- 209 活性汚泥呼吸阻害試験(1984/4/4採  
択)
- 210 魚類初期生活段階毒性試験  
(1992/7/17採択)
- 211 オオミジンコ繁殖阻害試験  
(1998/9/21採択)
- 212 魚類胚・仔魚期短期毒性試験  
(1998/9/21採択)
- 213 ミツバチ急性経口毒性試験  
(1998/9/21採択)
- 214 ミツバチ急性接触毒性試験  
(1998/9/21採択)
- 215 魚類稚魚成長毒性試験  
(2000/1/21採択)
- 216 土壌微生物窒素無機化試験  
(2000/1/21採択)
- 217 土壌微生物炭素無機化試験  
(2000/1/21採択)
- 218 土壌中ユスリカ毒性試験  
(2004/4/13採択)
- 219 水中ユスリカ毒性試験(2004/4/13  
採択)
- 220 ヒメミミズ繁殖試験(2004/4/13採  
択)
- 221 ウキクサ生長阻害試験(2006/3/23  
採択)
- 222 ミミズ繁殖毒性試験(2004/4/13採  
択)
- 227 陸生植物活性試験(2006/7/19採  
択)

## OECD GUIDELINES FOR THE TESTING OF CHEMICALS

### Freshwater Alga and Cyanobacteria, Growth Inhibition Test

#### INTRODUCTION

1. OECD Guidelines for Testing of Chemicals are periodically reviewed and updated in the light of scientific progress. With respect to Guideline 201, Alga, Growth Inhibition Test (adopted June 1984), the need to extend the Guideline to include additional species and update it to meet the requirements for hazard assessment and classification of chemicals has been identified. The revision has been completed on the basis of extensive practical experience, scientific progress in the field of algal toxicity studies, and extensive regulatory use, which has occurred since the original adoption.

2. Definitions used are given in Annex 1.

#### PRINCIPLE OF THE TEST

3. The purpose of this test is to determine the effects of a substance on the growth of freshwater microalgae and/or cyanobacteria. Exponentially growing test organisms are exposed to the test substance in batch cultures over a period of normally 72 hours. In spite of the relatively brief test duration, effects over several generations can be assessed.

4. The system response is the reduction of growth in a series of algal cultures (test units) exposed to various concentrations of a test substance. The response is evaluated as a function of the exposure concentration in comparison with the average growth of replicate, unexposed control cultures. For full expression of the system response to toxic effects (optimal sensitivity), the cultures are allowed unrestricted exponential growth under nutrient sufficient conditions and continuous light for a sufficient period of time to measure reduction of the specific growth rate.

5. Growth and growth inhibition are quantified from measurements of the algal biomass as a function of time. Algal biomass is defined as the dry weight per volume, e.g. mg algae/litre test solution. However, dry weight is difficult to measure and therefore surrogate parameters are used. Of these surrogates, cell counts are most often used. Other surrogate parameters include cell volume, fluorescence, optical density, etc. A conversion factor between the measured surrogate parameter and biomass should be known.

6. The test endpoint is inhibition of growth, expressed as the logarithmic increase in biomass (average specific growth rate) during the exposure period. From the average specific growth rates recorded in a series of test solutions, the concentration bringing about a specified x % inhibition of growth rate (e.g. 50%) is determined and expressed as the  $E_xC_x$  (e.g.  $E_5C_{50}$ ).

7. An additional response variable used in this Guideline is yield, which may be needed to fulfil specific regulatory requirements in some countries. It is defined as the biomass at the end of the exposure period minus the biomass at the start of the exposure period. From the yield recorded in a series of test solutions, the concentration bringing about a specified x % inhibition of yield (e.g., 50 %) is calculated and expressed as the  $E_yC_x$  (e.g.  $E_{50}C_{50}$ ).

8. In addition, the lowest observed effect concentration (LOEC) and the no observed effect concentration (NOEC) may be statistically determined.

#### INFORMATION ON THE TEST SUBSTANCE

9. Information on the test substance which may be useful in establishing the test conditions includes structural formula, purity, stability in light, stability under the conditions of the test, light absorption properties, pKa, and results of studies of transformation including biodegradability in water.

10. The water solubility, octanol water partition coefficient ( $P_{ow}$ ) and vapour pressure of the test substance should be known and a validated method for the quantification of the substance in the test solutions with reported recovery efficiency and limit of detection should be available.

#### VALIDITY OF THE TEST

11. For the test to be valid, the following performance criteria should be met:

- The biomass in the control cultures should have increased exponentially by a factor of at least 16 within the 72-hour test period. This corresponds to a specific growth rate of  $0.92 \text{ day}^{-1}$ . For the most frequently used species the growth rate is usually substantially higher (see Annex 2). This criterion may not be met when species that grow slower than those listed in Annex 2 are used. In this case, the test period should be extended to obtain at least a 16-fold growth in control cultures, while the growth has to be exponential throughout the test period. The test period may be shortened to at least 48 hours to maintain unlimited, exponential growth during the test as long as the minimum multiplication factor of 16 is reached.
- The mean coefficient of variation for section-by-section specific growth rates (days 0-1, 1-2 and 2-3, for 72-hour tests) in the control cultures (See Annex 1 under "coefficient of variation") must not exceed 35%. See paragraph 49 for the calculation of section-by-section specific growth rate. This criterion applies to the mean value of coefficients of variation calculated for replicate control cultures.
- The coefficient of variation of average specific growth rates during the whole test period in replicate control cultures must not exceed 7% in tests with *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Desmodesmus subspicatus*. For other less frequently tested species, the value should not exceed 10%.

#### REFERENCE SUBSTANCE

12. Reference substance(s), such as 3,5-dichlorophenol used in the international ring test (1), may be tested as a means of checking the test procedure. Potassium dichromate can also be used as a reference substance for green algae. It is desirable to test a reference substance at least twice a year.

#### APPLICABILITY OF THE TEST

13. This Guideline is most easily applied to water-soluble substances which, under the conditions of the test, are likely to remain in the water. For testing of substances that are volatile, strongly adsorbing, coloured, having a low solubility in water or substances that may affect the availability of nutrients or minerals in the test medium, certain modifications of the described procedure may be required (e.g., closed system, conditioning of the test vessels). Guidance on some appropriate modifications is given in (2) (3) and (4).

# 生態影響に関するガイダンス文書等

- No.1 OECDテストガイドラインの作成のためのガイダンス文書
- No.3 水生環境影響評価のためのガイダンス文書
- No.5 鳥類毒性に関するSETAC/OECDワークショップ報告書
- No.6 オオミジンコ繁殖毒性の最終リングテスト報告書
- No.10 水生環境毒性データの統計解析に関するワークショップ報告書
- No.11 農薬及び工業化学品の水生環境試験法に関する詳細レビュー文書
- No.23 試験困難物質の水生環境毒性試験に関するガイダンス文書
- No.27 水生環境に有害な化学物質の分類のための調和システムの利用のためのガイダンス文書
- No.29 金属及び金属化合物の水媒体における溶解・変態に関するガイダンス文書
- No.33 化学物質及び混合物の健康・環境有害性に関する調和された分類システム
- No.34 有害性評価のための新規又は改正試験法の検証及び国際的な受け入れに関するガイダンス文書
- No.44 化学物質の有害性・リスク評価に用いられる主要用語の解説
- No.46 甲状腺活性物質の検出のための両生類変態試験に関する詳細レビュー文書
- No.47 内分泌活性物質の検出のための魚類スクリーニング試験に関する詳細レビュー文書
- No.49 (定量的)構造活性相関の検証のための原則に関する専門グループ報告
- No.50 トキシコゲノミクスに関するOECD/IPCSワークショップ報告書
- No.53 淡水静水フィールドシミュレーション試験(屋外マイクロコズム・メゾコズム)試験に関するガイダンス文書
- No.54 生態毒性データの統計解析の現行のアプローチ:適用のためのガイダンス
- No.55 発生、生殖、内分泌かく乱作用に重点を置いた水生節足動物のライフサイクル毒性試験に関する詳細レビュー文書
- No.58 OECD加盟国における新規・既存化学物質の評価における(定量的)構造活性相関の規制的使用及び適用に関する報告書
- No.60 内分泌活性物質の検出のための魚類21日間スクリーニング試験の検証のための初期作業報告書(フェーズ1A)
- No.61 内分泌活性物質の検出のための魚類21日間スクリーニング試験の検証報告書(フェーズ1B)

# OECD諸国の工業化学品に関する試験要求（OECDで取りまとめ中）

Type of data/information	New Chemicals <sup>(1)</sup>	Existing Chemicals	Corresponding test methods
Acute Fish Toxicity	AUS , CH , EU-D , EU-REACH , JPN , US-XB	EU-E , EU-REACH , JPN , JPN-HPV , US-1 , US-HPV	TG203, Other
Acute Daphnia Toxicity	AUS , CH , EU-D , EU-REACH , JPN , US-XB	EU-E , EU-REACH , JPN , JPN-HPV , US-1 , US-HPV	TG202, Other
Algae Growth Inhibition	AUS , CH , EU-D , EU-REACH , JPN , US-XB	EU-E , EU-REACH , JPN , JPN-HPV , US-1 , US-HPV	TG201, Other
Toxicity to bacteria	CH , EU-D , EU-REACH	EU-E , EU-REACH	TG209, TG216, TG217, Other
Prolonged (Reproduction) Daphnia toxicity	CH , EU-D , EU-REACH	EU-REACH	TG211, Other
Further fish toxicity	CH , EU-D , EU-REACH	EU-REACH	TG204, TG210, TG212, TG215, Other
Test on higher plants (e.g. Lemna)	CH , EU-REACH	EU-REACH	TG208, TG221, TG227, Other
Toxicity to terrestrial organisms	CH , EU-D , EU-REACH	EU-E , EU-REACH	TG205, TG206, TG207, TG208, Other
Toxicity to soil dwelling organisms	CH , EU-D , EU-REACH ,	EU-E , EU-REACH	TG207, TG222, Other
Toxicity to birds	CH , EU-D , EU-REACH ,	EU-REACH	TG205, TG206, Other
Additional studies with other organisms -Honeybees -Chironomid -Enchytraeidae	CH , EU-D		TG213, TG214, TG218, TG219, TG220, Other
Prolonged (Reproduction) Daphnia toxicity	CH , EU-D , EU-REACH	EU-REACH	TG211, Other
Further fish toxicity	CH , EU-D , EU-REACH	EU-REACH	TG204, TG210, TG212, TG215, Other
Test on higher plants (e.g. Lemna)	CH , EU-REACH	EU-REACH	TG208, TG221, TG227, Other
Toxicity to terrestrial organisms	CH , EU-D , EU-REACH	EU-E , EU-REACH	TG205, TG206, TG207, TG208, Other
Toxicity to soil dwelling organisms	CH , EU-D , EU-REACH ,	EU-E , EU-REACH	TG207, TG222, Other
Toxicity to birds	CH , EU-D , EU-REACH ,	EU-REACH	TG205, TG206, Other
Additional studies with other organisms -Honeybees -Chironomid -Enchytraeidae	CH , EU-D		TG213, TG214, TG218, TG219, TG220, Other

# GHSにおける水生環境有害性分類

急性毒性区分	慢性毒性区分
急性1: 急性毒性値 (LC <sub>50</sub> 又は EC <sub>50</sub> ) ≤ 1mg/L	慢性1: 急性1であって、急速分解性でない又は蓄積性あり
急性2: 1mg/L < 急性毒性値 ≤ 10mg/L	慢性2: 急性2であって、急速分解性でない又は蓄積性あり(慢性 NOEC > 1mg/L の場合を除く)
急性3: 10mg/L < 急性毒性値 ≤ 100mg/L	慢性3: 急性3であって、急速分解性でない又は蓄積性あり(慢性 NOEC > 1mg/L の場合を除く)
	慢性4: 急性毒性値が得られず、急速分解性でない又は蓄積性あり(慢性 NOEC > 1mg/L の場合を除く)

# 慢性水生有害性分類改定案

急速分解性でない物質	急速分解性物質	慢性毒性に関するデータがない場合
慢性1:慢性毒性値 (NOEC又はEC <sub>x</sub> ) ≤0.1mg/L	慢性1:慢性毒性値 ≤0.1mg/L	慢性1:急性1であって、急速分解性でない又は蓄積性あり
慢性2:0.1mg/L<慢性毒性値≤1mg/L	慢性2:0.01mg/L<慢性毒性値≤0.1mg/L	慢性2:急性2であって、急速分解性でない又は蓄積性あり
	慢性3:0.1mg/L<慢性毒性値≤1mg/L	慢性3:急性3であって、急速分解性でない又は蓄積性あり
慢性4:脊椎動物に内分泌かく乱作用がある物質等	慢性4:脊椎動物に内分泌かく乱作用がある物質等	慢性4:急性毒性値が得られず、急速分解性でない又は蓄積性あり

# テストガイドラインの開発

加盟国(リード国)がプロジェクト提案を提出、テストガイドライン作業グループ(WNT)が承認

↓

詳細レビュー文書

→

試験手順の案の作成

↔

試験法の検証、リングテストなど

↓

リード国がテストガイドライン案を作成、WNTを通じ専門家によるコメント

↔

ワークショップ、協議会合等

↓

WNTがテストガイドライン案を承認

↓

化学品合同会合及び環境政策委員会による承認

↓

理事会決定への追加として理事会が承認

# テストガイドラインの検証(バリデーション)

- OECDテストガイドラインの開発に当たっては、試験法の妥当性の検証(validation)を経ることとされている。
- 試験法の検証に関するガイダンス文書では、以下のとおりの検証の原則が定められている。
  - 試験法の根拠が入手可能であること(科学的根拠、規制目的、試験の必要性等)
  - 試験法のエンドポイントと関心のある生物学的現象との関係が記述されていること
  - 試験法の詳細な手順が入手可能であること
  - 試験施設内及び試験施設間の再現可能性が実証されていること
  - 試験法が対象とする代表的な参照物質を対象とする試験において、試験法のパフォーマンスが実証されていること
  - 関心のある生物種と、関連する毒性データにより、試験法のパフォーマンスが評価されていること
  - 理想的には、試験法の有効性を示すデータはGLP原則に従って得られたものであること
  - 試験の有効性を示すすべてのデータが、専門家によるレビューのために入手可能であること
- 試験法とその検証のためのデータは、独立のピアレビューを経るべきとされている。

# テストガイドラインプログラムの活動計画

- 魚類胚毒性試験ガイドラインの作成
  - 魚類急性毒性試験のリミット試験としてのステップダウンアプローチに関するガイダンス文書の作成
  - 鳥類摂餌毒性試験(TG205)の改訂
  - 鳥類忌避試験に関するガイダンス文書の作成
  - 鳥類2世代試験に関する詳細レビュー文書及びガイドラインの作成
  - 鳥類急性毒性試験ガイドラインの作成
  - 嫌気性バクテリアの活性阻害(活性汚泥からのガス発生の減少)試験ガイドラインの作成
  - トビムシ繁殖試験ガイドラインの作成
  - ダニ繁殖試験ガイドラインの作成
  - 半フィールド条件におけるミツバチ繁殖試験に関するガイダンス文書の作成
  - フンバエ発達毒性試験ガイドラインの作成
  - 底生・水生オヨギミズ毒性試験ガイドラインの作成
  - コペポーダ繁殖・発達試験ガイドラインの作成
- (内分泌かく乱プログラム)
- 魚類21日間スクリーニング試験法の開発及び検証
  - 魚類ライフサイクル試験の開発及び検証
  - 魚類性発達試験法の開発及び検証
  - 魚類長期試験に関する詳細レビュー文書の作成
  - 両生類試験法の開発及び検証
  - オオミジンコ繁殖毒性試験(TG211)の内分泌作用への拡張
  - アミ類ライフサイクル毒性試験ガイドラインの作成

# OECD 内分泌かく乱物質試験評価 特別プログラム

- 1996年に開始
- 以下を目的とする
  - 加盟国への情報提供及び活動の調整
  - 内分泌かく乱作用の試験のためのテストガイドラインの作成・改定
  - 有害性・リスク評価のためのアプローチの国際調和
- 2002年、内分泌かく乱物質の試験評価のための概念的枠組みについて合意
  - 内分泌かく乱作用を通じた有害性の検出のための情報を得る手段となるさまざまな試験法を位置づけた道具箱
  - 試験手順を定めるものではない

# 内分泌かく乱作用の試験・評価に関する概念的枠組み

- レベル1: 既存の情報による順位付け
  - 物理化学的特性、入手可能な毒性データ等
- レベル 2: 作用メカニズムに関する情報を示す試験管内試験
  - ホルモン受容体結合性
  - レポーター遺伝子試験(試験法検証報告書のピアレビュー中)
  - 構造活性相関等
- レベル3: 単一の内分泌作用に関するデータを示す動物試験
  - 子宮肥大試験(試験法検証作業終了、ガイドライン協議中)
  - ハーシュバーガー試験(試験法検証報告書のピアレビュー中)
  - 魚類スクリーニング試験(試験法検証報告書のピアレビュー開始予定) 等
- レベル4: 複数の内分泌作用に関するデータを示す動物試験
  - 改良OECD 407試験(試験法検証報告書のピアレビュー中)
  - 魚類生殖腺組織病理試験等
- レベル 5: リスク評価のための内分泌作用及びその他のメカニズムを通じた有害性データを示す動物試験
  - 哺乳類における一世代試験・二世代試験、魚類・鳥類・両生類・無脊椎動物におけるパーシャルライフサイクル・フルライフサイクル試験

# 内分泌かく乱作用試験法の開発：我が国の貢献

- 魚類21日スクリーニング試験に関するテストガイドラインの作成
  - 検証作業フェーズ1A(2003年)：強エストロジェン(17 $\beta$ -エストラジオール)及びアンドロジェン(17 $\beta$ -トレンボロン)を使用
  - 検証作業フェーズ1B(2004年)：弱エストロジェン(ペンチルフェノール)、アロマトーゼ阻害剤(プロクロラズ)及び抗アンドロジェン(フルタミド)を使用
  - 検証作業フェーズ2(2005年)：陰性対照物質として過マンガン酸カリウム及び1-オクタノールの2物質を使用
  - ビテロジェニン濃度及び二次性徴をエンドポイントとするテストガイドライン案を作成
- ミジンコを用いた試験法の開発
  - 検証作業実施中
- 魚類培養細胞を用いた試験管内試験法のレビュー
- 両生類に関する検討への協力

# 最近の会合及び今後の会合予定

- 2006年3月 第9回内分泌かく乱試験評価タスクフォース(EDTA)(ストックホルム)
- 2006年4月 第18回テストガイドライン作業グループ(WNT)(ベルン)
- 2006年11月 化学品合同会合(ボン)
- 2006年12月 非動物試験法検証会合(東京)
- 2007年1月 哺乳類試験法検証会合(リューブリアナ)
- 2007年1月 生態試験法検証会合(マドリッド)
- 2007年3月27～30日 第10回EDTA及び第19回WNT(パリ)



Organisation for Economic Co-operation and Development

This sub-site  Whole site

[More Search options](#)

- Environment Directorate (Home)
- Chemical Safety
    - Biocides
    - Chemical Accidents
    - Chemicals Classification and Labelling
    - Chemicals Hazard/Risk Assessment
    - Chemicals Risk Management
    - Chemicals Testing - Guidelines
    - Co-operation on the Investigation of Existing Chemicals
    - Good Laboratory Practice
    - New Chemicals
    - Pesticides
    - Pollutant Release and Transfer Registers
    - Safety of Manufactured Nanomaterials

### Chemicals Testing - Guidelines

[About](#) | [Publications & Documents](#) | [Information by Country](#)

The OECD Guidelines for the Testing of Chemicals are a collection of the most relevant internationally agreed testing methods used by government, industry and independent laboratories to characterise potential hazards of new and existing chemical substances and chemical preparations/mixtures.

#### What's new

##### [Peer Review Packages Available](#)

04-Oct-2006

The peer review packages for the updated Test Guideline 407, the Hershberger Assay and the Stably Transfected Transcriptional Activation Assay are now available.

##### [New and Revised Test Guidelines Published](#)

05-Jul-2006

The OECD Guidelines for the Testing of Chemicals are a collection of the most relevant internationally agreed test methods used by government, industry and independent laboratories to determine the safety of chemicals and chemical preparations, including pesticides and industrial chemicals. They cover tests for the physical-chemical properties of chemicals, human health effects, environmental effects, and degradation and accumulation in the environment. The 16th Addendum to the Guidelines, consists of four new and two revised Test Guidelines and a revised Introduction to Section 3.

##### [OECD focus session on integrated approaches to testing and assessment](#)

15-Mar-2006

Member countries are beginning to share experiences on using integrated approaches to fulfil information requirements for testing and assessment in different regulatory frameworks. A Focus Session held during the 39th Joint Meeting of the Chemicals Committee and Working Party on Chemicals, Pesticides and

#### Don't miss

[OECD Guidelines for the Testing of Chemicals](#)

[OECD Harmonised Templates](#)

[Overview of adopted and draft Guidelines](#)

[Guidance and Review Documents](#)

[Endocrine Disrupters- Testing, Assessment](#)

[Endocrine Disrupters- Sharing the Work](#)

[Activities on \(Q\)SARs](#)

[Activities on Toxicogenomics](#)

[Contact Us](#)

[Site Map](#)