

生態毒性試験実施にあたって の留意点

2018年 3月1日 東京
3月6日 大阪



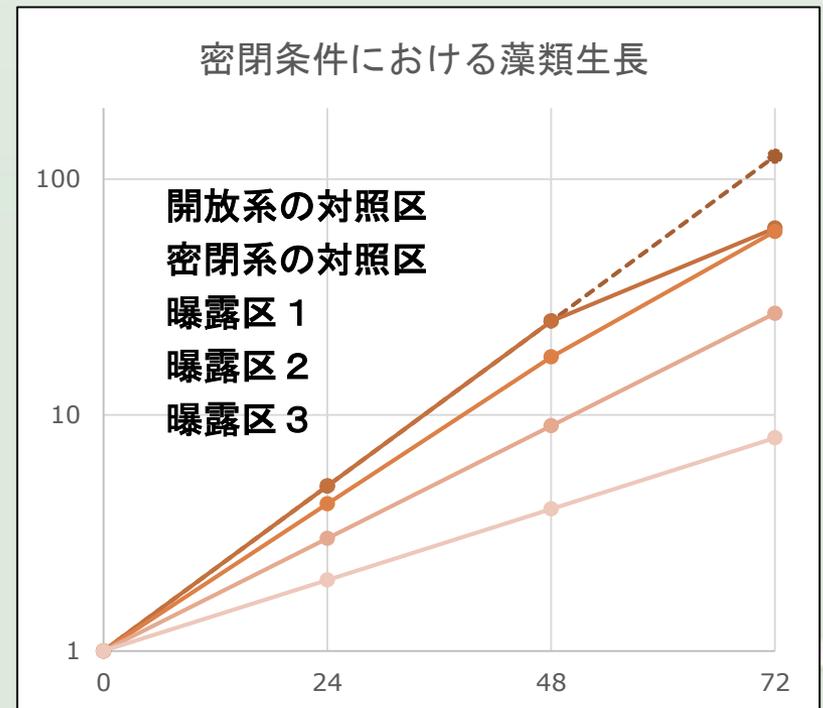
生態影響に関する化学物質審査規制／試験法セミナー
菅谷 芳雄 国立研究開発法人国立環境研究所



密閉系試験における毒性値は？

揮散性物質の藻類生長阻害試験は密閉条件での試験が推奨される。毒性値の算出において考慮すべきことは？

- 密閉条件ではCO₂の不足により曝露期間（72時間）、対照区でも指数増殖を維持できない。
- 曝露区では、被験物質の影響で生長速度は抑制されるが、最終到達濃度は変わらない。
- 生長速度の阻害率（曝露区／対照区）は時間で違う。





密閉系試験における毒性値は？

対照区の生長速度の日間変動係数が35%未満であっても、生長曲線から判断して、0-48時間の生長阻害率から毒性値を算出することは妥当か？

- 密閉条件での曝露など正当な理由があれば、48時間の試験期間であっても試験は妥当。
- 毒性を正しく評価でき科学的に推奨される、手順である。

		対照区	曝露区 1	曝露区 2	曝露区 3
生物量	0時間	1	1	1	1
	24時間	5	4.2	3	2
	48時間	25	17.64	9	4
	72時間	62	60	27	8
生長速度(0-72h)		1.38	1.36	1.10	0.69
生長阻害率		-	0.8%	20%	50%
生長速度(0-48h)		1.61	1.44	1.10	0.69
生長阻害率		-	11%	32%	57%

GLP上の試験委託者の義務とは？



GLP試験に関して、委託者はGLP試験機関に被験物質を渡す以外にどのような義務があるのでしょうか？

- 試験委託者は試験機関に被験物質に関する取得情報を提供しなければなりません。
- 化学物質GLPでは、試験機関での試資料保管義務は10年としています。そのため、届出時のデータの試験期間が10年以内であれば、GLP試験機関に、それ以後であれば届出者が詳細データを保有している可能性が高いと理解しています。
- 現在OECDで審議中の被験物質に関するドラフトガイダンスが承認されると、被験物質について義務が多くなります。

生態毒性試験に関する相談は？



化審法の新規化学物質の登録に際して要求される生態毒性試験について、当局に事前に相談ができます。どのような内容が多いですか？

- 化審法では、原則届出物質そのものの試験を求めるが、分解度試験の結果、届出物質は全て分解し、変化物が残留する時には、変化物の毒性試験を求めます。
- 変化物の構造が特定できない、特定できても入手できないなどの困難性が判明した段階で、当局との協議「相談」が必要となります。
- その他の「試験困難性」があり、事前相談が必要となる例もあります。

変化物の試験手順は？



届出物質の生分解性試験で、届出物質の全部もしくは一部が分解して変化物が生じ、残留した場合には、当該変化物の生態影響試験が必要となります。その試験手順は通常物質とことなるのでしょうか？

その1 【被験物質の決定】

- 生分解性試験においては、被験物質のみの系と被験物質＋活性汚泥の系それぞれで、被験物質の分解についての情報や生じた変化物を特定が求められます。
- その結果から、生態影響試験の被験物質と試験溶液の調製手順についての検討が必要となります。
- 原則として、残留した届出物質と入手可能な変化物を対象に生態影響試験が必要となります。



変化物の試験手順は？



届出物質の生分解性試験で、届出物質の全部もしくは一部が分解して変化物が生じ、残留した場合には、当該変化物の生態影響試験が必要となります。その試験手順は通常物質とことなるのでしょうか？

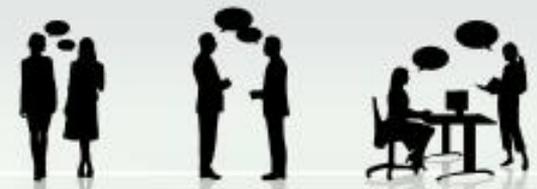
【生分解試験の結果は様々なケースがある】

変化物は、	特定された	or	できない
変化物を入手は	可能	or	不可能
変化物は	活性汚泥で生じる	or	水系でも生じる
変化物は	単数	or	多数

総合的に判断して、試験対象の化学物質が決定される。



変化物の試験手順は？



届出物質の生分解性試験で、届出物質の全部もしくは一部が分解して変化物が生じ、残留した場合には、当該変化物の生態影響試験が必要となります。その試験手順は通常物質とことなるのでしょうか？

その2【試験溶液調製】

- 相談案件の協議・審議会の判断で、試験対象となる化学物質（被験物質）が決定する。生態影響試験は、当該被験物質に最適な手順で試験を実施する。
- 単一の物質の場合は、物理化学的性状にあった手法を選択する → 溶解限度までの試験。
- 水溶解度の異なる複数の化学物質からなる混合物 → WAFによる試験溶液調製を検討する。



変化物の試験手順は？



届出物質の生分解性試験で、届出物質の全部もしくは一部が分解して変化物が生じ、残留した場合には、当該変化物の生態影響試験が必要となります。その試験手順は通常物質とことなるのでしょうか？

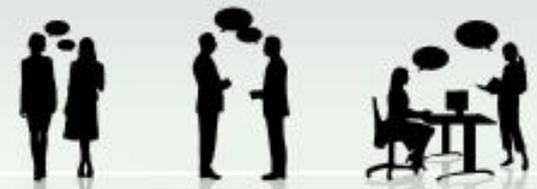
その3 【被験物質濃度の測定】

対象とする化学物質に曝露されたことを示すことが重要

- 単一化学物質の場合は、通常の試験と同じ
- WAFによる試験溶液調製の場合は、物質を特定しない手法でもよい（e.g. TOC測定）。



被験物質の選択ルールは？

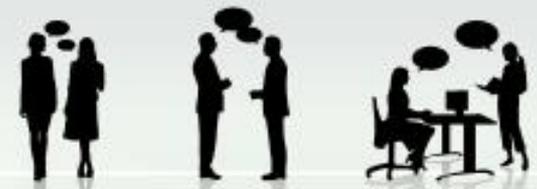


届出物質が異性体の混合物だったり、高分子化合物で分子量に幅がある場合に、生態影響試験の被験物質として適切な試験サンプルの選択に守るべきルールはありますか？

- 高分子成分を含む化合物（混合物）では、分子量1000未満成分の割合が届出の規定値より少ないサンプルは不十分であり、多いサンプルの試験を要求します。一般的に分子量800が生物膜を通過する（生物利用可能）上限と考えられているためです。
- 生態影響試験の被験物質は、魚類蓄積性試験に用いた試験サンプルと同じものであることが望ましい。
- 異性体比は、届出物質の既定値を外れないこと。異性体のそれぞれの毒性情報があって安全側の判断できる試験サンプルを用いることは妥当（十分な根拠がある）。



混合物の有害性評価は？



化審法では、原則として残留した化学物質成分毎のデータを要求しますが、ある化学物質は混合物で流通し、その混合物そのものを被験物質とした試験結果がある場合には、その結果を利用できるのでしょうか？

- 混合物（成分A50%,B30%,C20%）の試験結果：
100mg/Lまで試験生物に影響がない場合、
成分A 50mg/L 成分B 30mg/L 成分C 20mg/Lまで
毒性が認められないと判断する
- 異なる混合物（成分A10%、B50%、C40%）も同様なら
成分A 10mg/L 成分B 50mg/L 成分C40mg/Lまで
毒性が認められないと判断する。

【上記2つの毒性情報から】

- 成分A30%、成分B30%、成分C40% の混合物は、100mg/Lで毒性がないと推定される。

混合物の有害性評価は？



化審法では、原則として残留した化学物質成分毎のデータを要求しますが、ある化学物質は混合物で流通し、その混合物そのものを被験物質とした試験結果がある場合には、その結果を利用できるのでしょうか？

- 混合物（成分A50%,B30%,C20%）の $LC_{50}=10\text{mg/L}$ であった場合、1つの成分にだけ毒性があると仮定すると、 LC_{50} 値は 成分A:5mg/L 成分B:3.3mg/L 成分C:2mg/L と判断できる。
- 異なる混合物（成分A10%、B50%、C40%）も $LC_{50}=10\text{mg/L}$ なら
成分A:1mg/L 成分B:5mg/L 成分C:2.5mg/L
【上記2つの毒性情報から】
- LC_{50} 値は 成分A:5mg/L 成分B:5mg/L、成分C:2.5mg/Lと推定される。



混合物の有害性評価は？



国連GHS(Global Harmonised System for Labeling and Classification)のマニュアルでは？ 化審法ではPEC/PNECのため毒性値の妥当性、専門家判断？

- 有害性推定のために十分な類似の混合物のデータが利用可能なら「つなぎの原則 (Bridging Principles)」を適用
- すべての分類に考慮すべき成分について水生環境有害性データまたは分類データが利用可能なら「加算法」「加算式」の適用を提起

分類される成分の濃度(%)の合計		混合物の分類
急性 1×M ^a	≧25%	急性 1
(M×10×急性 1)+急性 2	≧25%	急性 2
(M×100×急性 1)+(10×急性 2)+急性 3	≧25%	急性 3

急性区分の
加算法

$$\frac{\sum C_i}{L(E)C_{50m}} = \sum_n \frac{C_i}{L(E)C_{50i}}$$

加算式 = 調和平均





ご静聴ありがとうございました。

ここからは、会場からのご質問をお聞きする時間です。

化審法セミナー発表スライドは、下記からダウンロードできます。
http://www.nies.go.jp/risk/seminar_kashin.html

OECD本部サイト 優良試験所基準(GLP)関連ページ
<http://www.oecd.org/chemicalsafety/testing/good-laboratory-practiceglp.htm>

