

改正農薬テストガイドラインの適用開始に伴う評価法の変更について(案)

1. 背景

藻類生長阻害試験については、1984年にOECDテストガイドライン201が定められ、そこでは面積法と速度法の2つの方法で、半数生長阻害濃度(EC50)値を算出することとされ、農薬取締法に基づくテストガイドライン(以下「農薬テストガイドライン」という。)も同様に定めていた(面積法と速度法の違いについては、別紙参照)。

しかしながら、2006年3月にOECDテストガイドライン201の改訂版が採択され、面積法が廃止された。これを受けて、農薬テストガイドラインも、OECDテストガイドライン201の内容に合わせるとともに、魚類急性毒性試験、ミジンコ類急性遊泳阻害試験については最大無影響濃度(NOEC)の算出を求めないこととする等の所要の改正を平成19年4月2日付けで行った。この改正農薬テストガイドラインは、平成20年4月2日以降に提出される試験成績について適用されることとなる。

2. 今後の運用

改正農薬テストガイドラインの適用が開始されることから、今後、水産動植物の被害防止に係る農薬登録保留基準の設定にあたっての評価法を以下のとおり変更する。

(1) 藻類生長阻害試験の評価における速度法の採用

これまで藻類に関しては面積法で求めたEbC50又は速度法で求めたErC50のうち、値の小さい方を基準値設定に用いるという運用を行ってきた。しかし、面積法が廃止されることから、今後は、原則として速度法で求めたErC50を基準値設定に用いることとする。

なお、これまでEbC50を用いて設定した基準値については、農薬登録のための特段の要請がない限り、直ちに変更はせず、将来、基準値を再評価する際に順次見直しを行うこととする。

(2) NOECの評価書からの削除

これまで、旧農薬テストガイドラインに従い、魚類急性毒性試験及びミジンコ類急性遊泳阻害試験について、NOECが求められてきたことから、基準値設定には用いないものの、NOECを評価書に記載してきた。

しかし、このNOECは慢性毒性試験のNOECと誤解されやすいため、改正農薬テストガイドラインの適用開始を機に、魚類急性毒性試験及びミジンコ類急性遊泳阻害試験について、今後、NOECを評価書に記載しないこととする。

なお、藻類生長阻害試験については、2006年の改正OECDテストガイドライン及び改正農薬テストガイドラインでも引き続きNOECが算出できることとされていることから、今後もNOECを評価書に記載することとする。

(別紙)

OECD テストガイドライン 201 (藻類生長阻害試験) における
面積法と速度法について

1. 藻類生長阻害試験の毒性値の算出方法について

従前の OECD テストガイドライン 201 (1984 年 6 月 7 日採択、以下「TG201」という。)では、化学物質濃度と藻類の生長に対する影響との関係を決定するため、面積法と速度法の 2 つの方法を規定している。

藻類生長阻害試験では、指数増殖期の藻類で試験を行うことから、その生長は指数増殖モデルで近似できる。

$$dN/dt = \mu N \quad (\text{式 1})$$

(1) 面積法(areas under the growth curves)

面積法は図 1 に示す生長曲線下の面積(A) から毒性値を算出する方法である。面積(A)は式 2、各試験濃度区における生長阻害率 I_A は式 3 から算出される。

$$A = \frac{N_1 - N_0}{2} \times t_1 + \frac{N_1 + N_2 - 2N_0}{2} \times (t_2 - t_1) + \dots + \frac{N_{n-1} + N_n - 2N_0}{2} \times (t_n - t_{n-1}) \quad (\text{式 2})$$

$$I_A = \frac{A_C - A_t}{A_C} \times 100 \quad (\text{式 3})$$

N_i : t_i 時の実測細胞濃度; t_i : 時間 (日); I_A : 面積法で求めた生長阻害率

A_c : 対照区の生長曲線下の面積; A_t : 各試験濃度区における生長曲線下の面積

(2) 速度法(growth rates)

速度法は図 2 に示す生長曲線の傾き(μ)から毒性値を算出する方法である。傾き(μ)は式 4、各試験濃度区における生長阻害率 I_μ は式 5 から算出される。

$$\mu_{i-j} = \frac{\ln N_j - \ln N_i}{t_j - t_i} \quad (\text{式 4})$$

$$I_\mu = \frac{\mu_c - \mu_t}{\mu_c} \times 100 \quad (\text{式 5})$$

I_μ : 速度法で求めた生長阻害率

μ_c : 対照区の生長速度; μ_t : 各試験濃度区における生長速度

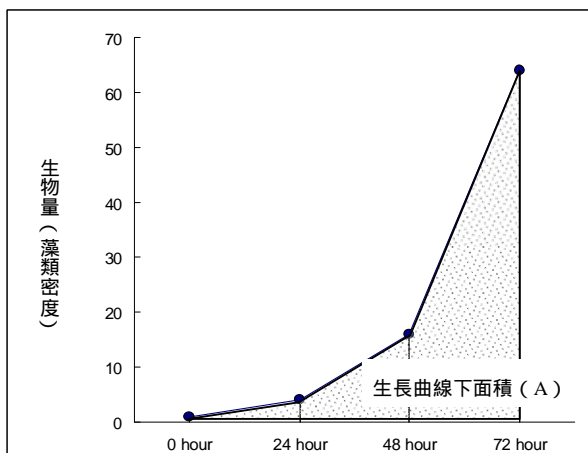


図1 生長曲線

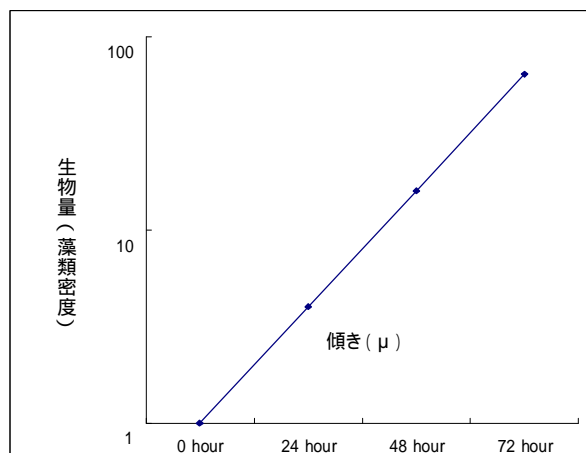


図2 生長曲線 (縦軸は対数)

2. 面積法と速度法の比較

速度法は、指数増殖モデル(式1)に直接対応する生長曲線の傾き μ (式4)から生長阻害率を求めるものであり、面積法では生長曲線下の面積 A (式2)から生長阻害率を求めるものである。当初、速度法に比べ面積法の方が物質の性状、試験条件等によらず安定的な影響濃度が得られると認識されていた。

しかし、面積法は指数増殖モデルとは数学的に関係のない生長曲線下の面積 A (式2)から生長阻害率を求めるものであり、毒性値が試験期間、対照区の生長速度の大小および阻害率 - 濃度の回帰式の傾きの大小に依存するなどの問題があることが明らかとなった。

そのため、OECDでは、指数関数的に増殖する生物に対する毒性評価のための反応変数としては生長速度が科学的に妥当であることから速度法を採用し、面積法は採用しないとする考え方を盛り込んだ藻類生長阻害試験に係るOECDテストガイドライン201の改訂版を2006年3月に採択した。

なお、面積法より得られる毒性値は、速度法から求めたものより小さい値を示す傾向がある。環境省が平成7～15年に行った225の化学物質の藻類生長阻害試験において速度法及び面積法により求められた毒性値の平均は以下のとおりである。

| | 0-72時間 速度法 | 0-72時間 面積法 |
|-------------|---------------|---------------|
| EC50(算術平均値) | 62.4 mg/L | 35.5 mg/L |
| EC50(幾何平均値) | 7.25 mg/L | 4.49 mg/L |
| NOEC(算術平均値) | 15.2 mg/L | 12.4 mg/L |
| NOEC(幾何平均値) | 1.17 mg/L | 1.25 mg/L |