

HPV 化学物質点検マニュアル

第4章 データの初期評価

4.2. 水生生物への影響に関する初期評価の手引き¹

4.2.1 緒言

1. このセクションは、詳細な SIDS の存在する高生産量(HPV)化学物質の水生生物への影響の初期評価に関する手引きである。この手引きは、3度開催された OECD ワークショップ (OECD 1992a, 1992b および 1992c) の成果を踏まえて作成された「水生生物への影響の評価に関するガイダンス文書 (Guidance Document on Aquatic Effects Assessment (OECD, 1996))」に基づいている。本文書に提示された評価手順に関連する詳細情報が必要となった場合には、いつでもこれらの参考文書を参照することができる。特に、OECD (1996)における影響評価事例は、手順を理解し報告の質を向上させるのに役立つ。「欧州委員会技術指針書 (The Technical Guidance Document of the European Commission (1996 および 2002))」も、環境への影響の評価に関する詳細な手引きとなる。

注： このセクションは、データの評価のみを対象とする。OECD HPV化学物質点検プログラムに含まれる試験要件については、本マニュアルの第2章を参照のこと。水生生物への影響に関する初期評価については、第2章で説明したSIDS要件が充足されていることを前提とする。ほかにも水生生物への影響に関する既存データがあれば、評価に用いることが望ましい。

2. このセクションの主題は、水生生物への影響の評価である。一般的にこのような評価においては、短期毒性試験によって、3栄養段階のそれぞれにつき代表生物種 1、2種のみに対する当該化学物質の影響が評価される。すなわち、一次生産者（藻類）、一次消費者（ミジンコ）、および二次消費者（魚類）である。より精密な評価においては、慢性毒性または亜慢性毒性試験データと、さらに多種の水生生物種のデータまたは陸生生物のデータが用いられる。包括的な影響評価における次の段階では、（半）野外試験が評価の基礎となる。

3. 従って、この手引きにおいて重要な SIDS の有害性のパラメーターは下記のとおりである：

- 魚類急性毒性
- ミジンコ急性および慢性毒性
- 藻類毒性

微生物、ミミズ、陸生植物、鳥類、および底生生物に対する毒性等、他の生態毒性情報も環境への影響評価にとって重要性はあるが、この手引きではこうした情報は詳細には扱わない。

4. 水生生物への有害性分類に用いられている下記のパラメーターは、水生生物への影響に関する初期評価においても重要である。

- 分配係数(log K_{ow})
- 生分解性
- バイオアキュムレーション

5. 水生生物への影響の評価においては、生態系に対して容認できないような有害な影響がないと考えられる「低リスク」濃度（すなわち、予測無影響濃度、PNEC₂）が算出され、環境中存在濃度の実測値

¹本文書は、2002年10月までにOECD既存化学物質プログラム (OECD Existing Chemicals Programme) でなされた合意に基づき、OECD事務局 (Secretariat) が作成したものである。

² OECD (1995)では、PNECの代わりに「最大許容濃度(maximum tolerable concentration、MTC)」が用いられている。

または推定値（すなわち、環境予測濃度(Predicted Environmental Concentration, PEC)）との比較が行われる。PECがPNECを超えている場合には、さらなる評価またはリスクマネジメント措置の検討が必要である。しかし、方向性を定めなおしたHPV点検プログラムにおいては有害性の評価が優先であり、定量的暴露情報（すなわちPECの推定）はもはやそのプロセスの一部ではない。同じく、方向性を定めなおしたHPV化学物質点検プログラムのもとでは、PNEC値の提案も義務付けられていない（5.2.2 項を参照）。しかしながらPNEC値の導出は、入手可能な毒性データの解釈に役立つ可能性がある。

6. 水生生物への影響評価が初期段階からさらに高度で包括的な段階に進むにつれて、より詳細な情報が入手可能になることでPNECの推定の精度は高くなる。

7. この手引きは水溶性化合物に対して直接適用できる。水溶性の低い化合物およびその他の試験が困難な化学物質については、OECD (2000)が水生生物毒性試験の手引きとなる。また、OECD (2001)は、そのような化学物質の有害性分類の手引きとなる。

4.2.2 評価に用いられるデータの評価

8. 影響の評価を行う前に、データの十分性の評価が必要である。データ評価に関する具体的検討事項についてはOECD (1995)に詳述されているが、要約すると下記の通りである。

オクタノール-水分配係数

9. オクタノール-水分配係数 (Kow) は初期有害性評価における重要なパラメーターであるので、よく調べる必要がある。例えば、振とうフラスコ法によるKowの決定は、疎水性の高い化学物質 ($\log Kow > 5$)には適していない。このような化学物質については、低速攪拌法またはジェネレーターカラム法を用いることができる。また、界面活性剤、ポリマー、無機物質、有機金属については、Kowが有用でない可能性があることにも留意すべきである。

バイオアキュムレーション

10. バイオアキュムレーションは、食物摂取および底質/土壌を含む複数の暴露経路を通じて起こるが、殆どの有機物質については水からの摂取（バイオコンセントレーション）が主な暴露経路であると考えられている。バイオコンセントレーションのデータは、実験のほか、Kowを用いるQSAR方程式を通じても得られる。簡易なバイオコンセントレーションのQSARでは、極めて疎水性の高い化学物質の野外条件の下でのバイオコンセントレーション係数(BCF)を予測できない場合が多いことに留意する必要がある。同一生物種について複数のBCFが入手可能である場合には、当該生物種の幾何平均を用いることが可能であろう。ただし、試験濃度を考慮する必要がある。BCF値は魚類について入手可能なことが多いが、他の生物種（ムラサキガイ、カキ、ホタテ）についても入手可能な場合がある。微細藻類のBCF報告値を用いる場合には注意が必要である。バイオアキュムレーションデータの解釈に関するより詳細な手引きについてはOECD (2001)を参照。

水生毒性

11. 被験物質の水への溶解度を測定または予測しなければならず、試験から求められた影響濃度が溶解度限界値を有意に超えないことを確認する必要がある。溶媒を用いた試験結果の取り扱いには慎重にすべきである。試験が困難な物質に関するより詳細な手引きについてはOECD (2000)を参照。

12. データの解釈にあたっては、実測濃度か名目濃度か、対照実験の反応、「非感受性」生物種の使用、および水質調査値等、試験の質に影響を及ぼす試験方法の主要面を吟味する必要がある。生態学的に直接の関連性があるエンドポイント（例えば、生存、成長、生殖）は、他のエンドポイント（例えば生化学的パラメーター）よりも重視されるべきである。試験生物種の検討も重要である：

例えば、急性試験で最も感受性の高かった生物種を用いた慢性試験は、他のどの生物種を用いた結果よりも重要性が高い。

13. 残留性すなわちバイオアキュムレーションの可能性のある化学物質については、慢性毒性試験が望ましい。このような化学物質の一部については、急性試験における 96 時間暴露では期間が十分でない可能性がある。

14. 同一生物種について複数のデータが入手可能な場合には、それらのデータの利用について下記の手順が提案されている。

- それらのデータが同一影響パラメーター（エンドポイント）と同一期間に基づいている場合には、幾何平均を用いる必要がある。幾何平均は $GMy = (y_1 * y_2 * y_3 * \dots * y_n)^{1/n}$ のように定義される。算術平均に比べて幾何平均では、ずれが非常に大きい値の影響が最小限に抑えられる。
- 使用されている影響パラメーターまたは暴露期間が異なる場合には、エンドポイントの重要性と様々な試験における暴露期間を考慮に入れつつ、最長暴露期間における最低値のみを用いるべきである。

4.2.3 PNEC の算出 - アセスメント係数

15. アセスメント係数法は、OECD HPV 化学物質点検プログラム内でPNECを導出するのに最もよく用いられる方法である。PNECは、LC₅₀、EC₅₀、他のL(E)C_x値、NOEC（無影響濃度）およびLOEC（最小影響濃度）等の毒性試験データを用いて算出される。MATC（最高許容濃度(maximum allowable toxicant concentration ; MATC) = (NOEC×LOEC)^{1/2}として算出される）も、影響評価に用いられている。

16. アセスメント係数は、限られたデータセットから得られた影響濃度を調整しPNECを推定するために用いられる。アセスメント係数の適用は、特異的な作用機序を持つことが疑われる物質やlog K_{ow}が大きな物質、あるいはバイオアキュムレーションの大きな物質の急性毒性データに対しては慎重に行うことが望ましい。アセスメント係数は下記のような不確実性と外挿を反映する：

- 生物種内および生物種間変動；
- 短期毒性から長期毒性への外挿；および
- 実験室での結果から野外への外挿。

17. これまでに提案されているアセスメント係数のいくつかが付属文書 1 に要約されている。以下の段落では、SIDS データから PNEC を推定する際に用いるべきアセスメント係数を提案する。これらを表 1 に要約する。

18. SIDSにおいて急性毒性データしか入手可能でない場合には、100～1000 のアセスメント係数がL(E)C₅₀の最低値に適用される[ケース(a)]。係数 1000 は、限られたデータしか入手可能でない場合に適用される慎重・安全を期した係数である。すなわち、この値は、それが適当な係数である可能性を示唆する証拠が入手可能になれば、100 まで下げることが可能である。そのような証拠には下記のものが含まれるであろう：

- (1) 感受性が最も高い生物種を代表すると考えられる生物種を含む、広範な生物種からのデータの入手可能性
- (2) 構造類似化合物または QSAR から得られる、急性毒性対慢性毒性比が低いと考えられることを示す情報

- (3) 当該化学物質の作用様式が非特異的または麻酔的であり、生物種間で毒性のばらつきが殆どないことを示唆する情報
- (4) 当該化学物質の放出が短期的または間歇的であること、また当該化学物質が環境中に残留しないことを示唆する情報

19. 急性毒性データのほかに慢性毒性データが入手可能であれば、下記の事項を考慮しながらアセスメント係数 10~100 が NOEC 最低値に適用される [ケース(b)] :

- (1) 1、2 段階の栄養段階を代表する生物種 1、2 種 (すなわち、魚類、ミジンコ、または藻類) から慢性 NOEC 値が入手可能である場合には、係数 100 または 50 が NOEC の最低値に適用される。この場合、慢性毒性データから導出された PNEC 値は、最低急性毒性データから導出された値と比較する必要がある。両者のうち低い方の値を評価に用いる。
- (2) 慢性毒性の NOEC が 3 栄養段階を代表する 3 生物種 (すなわち、魚類、ミジンコ、および藻類) から入手可能である場合には、係数 10 が NOEC の最低値に適用される。感受性が最も高い生物種の試験が行われたという説得力のある証拠がある場合には、2 栄養段階を代表する 2 生物種 (すなわち、魚類および/またはミジンコおよび/または藻類) から得られた NOEC の最低値に係数 10 を適用することも可能である。

20. 異なるアセスメント係数が使用された場合には、評価報告書の中で理由を明確に説明する必要がある。

表 1 PNEC 推定に用いるアセスメント係数案の要約

ケース	入手可能なデータ	アセスメント係数の範囲
(a)	藻類 EC ₅₀ (72 時間) ミジンコ EC ₅₀ (24-48 時間急性毒性試験) 魚類 LC ₅₀ (96 時間)	100 - 1000
(b)	ミジンコ NOEC (14-21 日慢性毒性試験) 藻類 NOEC (72 時間) 魚類 NOEC (慢性毒性試験)	10 - 100

[注記]

- 1. ケース(a)においては、3つの急性データは全て SIDS に含まれるべきである。
- 2. ケース(b)においては、藻類 NOEC は SIDS 項目であり、特定の化学物質についてはミジンコ NOEC または魚類 NOEC も SIDS に含めることが可能である。

4.2.4 QSAR 法の利用

21. 水生毒性に関する SIDS 項目は、(Q)SAR 推定値で充足させることが可能な場合がある (第 2 章、2.3.1 項を参照)。(Q)SAR の利用に関する詳細な手引きについては、第 3 章 3.3 項も参照。

22. QSAR の結果は、PNEC を推定するためのアセスメント係数の決定にも用いることが可能である (段落 18 を参照)。QSAR は、試験データの妥当性の確認や追加データの必要性の決定に用いることも可能である。水生毒性についての QSAR の利用に関するより詳細な手引きは付属文書 2 に記載してある。

23. QSAR を利用する場合、評価報告書中に手法とその信頼性を明確に記載する必要がある。

4.2.5 SIDS の範囲を超えるデータを用いた評価

統計学的外挿法

24. 分類学上異なる各種の生物群を対象とした長期試験に由来する大きなデータセットが入手可能 (OECD, 1992) である場合、PNEC の導出に統計学的外挿法を使うことが可能である。統計学的外挿の基礎となる大前提は下記の通りである (OECD, 1992) :

- 生物種の感受性の分布は理論的分布関数に従っている
- 実験室で試験された生物種グループは、この分布に従う無作為標本である

25. 種感受性分布 (Species Sensitivity Distributions ; SSD) データベースが当該用途に十分であれば、統計学的外挿法を用いて影響の評価を実施することが可能である (Posthuma et al., 2002)。

26. 一般に、長期毒性データは対数に変換され、分布関数に従ってあてはめられ (fit)、その分布の所定のパーセンタイルが基準として用いられる。複数の分布関数が提案されている。EPA (1995) は対数-三角関数を前提にしており、Kooijman (1987) ならびに Van Straalen および Denneman (1989) は対数-ロジスティック関数を、Wagner および Løkke (1991) は対数-正規関数を前提にしている。Aldenberg および Slob (1993) は、信頼区間を導入することによって 95 パーセンタイル値の不確実性の推定方法を改良したが、これは Aldenberg および Jaworska (2000) によって再び改良が加えられた。

27. 統計学的外挿手法についてはまだ論争があり、さらなる妥当性の確認が必要である。これらの方法の利点は、長期 NOEC の最低値を必ずとるのではなく、PNEC を導出するために生態系の生物種の感受性分布全体を使うことである。しかし、このような方法は批判を受ける可能性もある。主な欠点の中で特に下記のような理由が挙げられる：標準的な手法に比べるとこの方法の利用は透明性に欠ける、選択された被験生物種の代表性に疑問がある、エンドポイントの比較可能性の問題がある、特定のパーセンタイル値および信頼区間の選択が任意である等。

28. PNEC 導出に統計学的外挿法を用いる際には、下記の問題を処理する必要がある。

- 入力データの種類の明確化。できれば、慢性/長期試験、全ライフサイクルまたは多世代試験から得られた信頼できる NOEC であることが望ましい
- 当該物質の作用機序に関する情報。このような情報は、感受性があると考えられる分類学上の生物群を包含する必要性、または特定の分類学上の生物群の過剰代表性の可能性を排除する必要性を特定し評価する一助となり得る
- 生物種に関する最低必要条件。例えば、下記の分類学上の生物群からの代表種：魚類、甲殻動物、昆虫、藻類、藻類より高等な植物、代表生物種が未だないその他の群。上述の分類群の中には、国際的に標準化された長期試験ガイドラインが現時点では存在しないものもあることが認識されている。高感度エンドポイントと高感受性の生物種に関する知識/根拠および構造活性および作用機序に関する知識に基づいてこの要件を適用することが可能である。
- 最低標本数 (データ数)。これは議論が続いているテーマである。OECD (1992) では、分類学上異なる 8 群以上の生物種について NOEC が必要であるとの提案が行われており、EC (2002) は、分類学上の 8 生物種群の 10 生物種 (できれば 15 種以上) について NOEC が必要であるとの勧告を行っている。同様の提案が、Gibbons および Coleman (2001) または de Bruijn et al. (1999) によってなされている。
- 1 生物種について複数のデータが存在する場合のデータの取り扱い方。例えば、比較可能なデータを平均するのか、様々なデータが入手可能な場合に感度が最も高いエンドポイントを選択するのか、等

- 統計学的なあてはめ (fitting) の方法。すなわち、実際的な理由から対数-正規分布が望ましい方法である場合には、方法について言及し、説明しなくてはならない。さらに、適合度(goodness of fit)を検定するために統計学的方法が用いられるべきである。Kolmogorov-Smirnov 検定のほかに、データが豊富なデータセットのパラメーター分布の選択基準として Anderson-Darling の適合度検定を用いることが可能である。なぜなら、この検定法では分布端により重みが置かれるからである。結果の考察は、生物種分布を図示しながら行うことが望ましい。データがどの分布にもあてはまらない場合には、分布の左端（影響濃度の最低値）の分析を一層慎重に行う必要がある。特定の分布関数を選択した場合には明確に説明する必要がある
- パラメーター推定値、すなわち、その濃度より低濃度側には生物種の 5% 未満しかいない種感受性分布(SSD)プロファイルにおける濃度を、この濃度に関する 50% 信頼区間で PNEC の決定における中間値として導出することが可能である
- PNEC の推定、すなわち特定されたさらなる不確実性を反映させるために、必要ならこの中間値を適当なアセスメント係数で割ることが可能である。メゾコズム試験が入手可能な場合には、アセスメント係数を決定するためにそれらの評価も行うべきである
- 高感度エンドポイント、感受性生物種、毒性作用機序および/または構造活性の検討から得た知識等を考慮することにより、ケースバイケースで、上述した勧告事項から逸脱してもかまわない。

29. PNEC はまた、同一データベース上のアセスメント係数手法を適用することにより導出すべきである (4.2.3 項を参照)。

(半) 野外試験

30. 多くの HPV 化学物質については、(半) 野外試験の結果は (短期多生物種試験および長期メゾコズム試験も含めて) 入手不可能であろう。そうした結果が入手可能であり適当であると考えられる場合には、それらは慢性毒性データと共に包括的な影響の評価の基礎となる。用いられるべきアセスメント係数は、ケースバイケースで精査される必要がある。包括的評価において PNEC を推定するためのこれらの結果の適用可能性の判断基準については、OECD (1995) で勧告が行われている。

間接的影響の評価および底生生物に関する評価についての検討

31. 有害性がある可能性を当該化学物質に関する情報が示唆している場合には、漂泳性水生生物を用いた影響の評価のほかに、水生生物摂取による鳥類および哺乳類に対する間接的影響の評価と底生生物への影響の評価を行うこと (OECD 1992c) が可能であろう。しかし、このような評価は、SIDS を用いた HPV 化学物質初期評価の範囲を超えていると考えられる。OECD (1995)、US EPA (1984) および European Commission (1996, 2002) において言及されている幾つかの方法、すなわち、間接的影響に対する BCF を用いる手法および底生生物に対する平衡状態分配法を検討することが可能であろう。しかし、SIDS で入手可能なデータのみを用いて実施された評価は不確実性が非常に高い可能性がある。

4.2.6 報告および追加作業の特定

32. SIDS 初期評価報告書には、評価手法、試験データ、暴露推定値、および推定時になされた前提が明記される必要がある。

33. 水生生物への影響への懸念が化学物質の初期評価の結論から示唆される場合には、暴露評価の立案により、あるいは追加試験によって、さらに精密な評価を検討し提案することが可能であろう。例えば、PNEC 推定値が急性毒性試験とアセスメント係数から導出されたケースでは、適切な生物種 (例えば、急性試験において感受性が最も高い生物種) を対象とした慢性試験の実施が、考えうる追加活動の 1 つとして検討されるであろう。また、鳥類や哺乳類への間接的な影響の可能性がある場合、あるいは底生生物への有害性が考えられる場合には、次の段階のためにそれらについての評価を検討・提案することが可能であろう。

付属文書 1：文献中で提案されているアセスメント係数

34. これまでに複数のアセスメント係数の組み合わせが提案されている。OECD ワークショップ (OECD, 1992b) において、段落 16 で説明した各外挿ステップに対して係数 10 が勧告されている。この手法は、US EPA (1984) において提唱されている方法を修正したものである。

35. EUの技術指針書 (European Commission 1996; 2002) で提案されているアセスメント係数は、化学物質の性状と試験条件 (最も感受性の高い生物種の使用等) に依存している。Heger et al. (1995)は、急性毒性E(L)C₅₀-慢性毒性NOEC間の係数を 100 とすることは一般的に正当化できることを実測データにより証明している。

36. 欧州化学物質生態毒性・毒性センター (the European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals) からの提案は毒性データの比較に基づいている (ECETOC 1993)。急性：慢性比=40、慢性：モデル生態系比=5、およびモデル生態系：野外比=1 が提案されている。

37. 表 2 に上述した提案値の要約を示す。特定の条件下ではこれらの係数の変更が可能である (例えば、EU 技術指針書(Technical Guidance Document)にあるアセスメント係数 1000 は、確実な証拠があれば 100 に下げることができる)。このような変更に関する詳しい説明は、原参考文献を参照すること。

表 2. PNEC 推定のため水生毒性データへの適用が提案されているアセスメント係数

適用された入手可能な情報	最低値に適用されるアセスメント係数 (変更を含まない)		
	(a) OECD ワークショップ	(b) EU 技術 指針書	(c) ECETOC 案
1 栄養段階から急性毒性について急性L(E)C ₅₀ 値が 1 つ	1000	-	-
基本セット (魚類、ミジンコ、藻類) の 3 栄養段階の各段階から急性L(E)C ₅₀ 値 ³ が 1 つ以上	100	1000	200
慢性 NOEC 値が 1 つ (魚類またはミジンコのいずれか)	-	100	
2 栄養段階を代表する生物種 (魚類および/またはミジンコおよび/または藻類) からの慢性 NOEC 値 2 つ	-	50	5
3 栄養段階を代表する生物種 3 種 (通常は魚類、ミジンコ、藻類) 以上からの慢性 NOEC 値	10	10	
野外データまたはモデル生態系	-	ケース バイケース	1

³ EU技術指針書中では、「急性毒性」および「慢性毒性」の代わりに「短期毒性」および「長期毒性」が用いられている。

付属文書 2: 水生毒性に対する QSAR の適用可能性

38. 化学物質クラスに基づく QSAR は広く使用されている (例えば、US EPA (1988) を参照)。OECD (1994) では、US EPA に用いられている QSAR モデルと EC における試験データの比較が行われ、ミジンコと魚類について毒性の予測値と実測値がよく一致することが証明された。ケースバイケースで ECOSAR (US EPA 2000) 等のコンピュータシステムを用いることにより、ある化学物質について正しいモデルを選択・利用することが可能である。

39. QSAR は、麻酔作用等、化学物質の疎水性 (例えば、 $\log K_{ow}$) に依存する共通の毒性作用機序を持つ化学物質に適用することも可能である。OECD ユトレヒトワークショップ (OECD 1992a) では、表 2 に示したクラス I (不活性化学物質、ベースライン毒性) またはクラス II (低反応性化学物質) に分類される化学物質についてのみ、QSAR による水生毒性の適切な予測が可能であるという結論が下された。クラス I 化学物質に関しては、魚類、ミジンコ、および藻類への毒性の推定に QSAR を利用することが可能である。クラス II 化学物質に関しては、魚類への急性毒性の推定に QSAR を利用することが可能である。QSAR は室温で液体の物質、および水への溶解度のデータが入手可能な固体の物質に対してのみ妥当であることに留意すべきである。

表 2 共通の作用機序別の方法で行う QSAR 用の化学物質分類

クラス	構造	入手可能な QSAR	信頼性
クラス I	脂肪族アルコール、脂肪族ケトン、脂肪族エーテル、アルコキシエーテル、脂肪族ハロゲン化炭化水素、飽和アルカン、およびハロゲン化ベンゼン (C、H、N、O、F、Cl、Br のみを含有可能)	魚類 および <i>Daphnia magna</i> に対する急性および慢性毒性 藻類に対する慢性毒性 (非極性麻酔作用のみ)	濃度の予測が可能
クラス II	非酸性または弱酸性フェノール、芳香族アミンおよびアニリン、脂肪族一級アミン、弱塩基性ピリジン	魚類に対する急性毒性 (フェノールおよび一級芳香族アミン)	範囲の予測が可能

参考文献

- Aldenberg, T. and Jaworska, J. (2000). Uncertainty of the hazardous concentration and fraction affected for normal species sensitivity distributions. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 46, 1-18.
- Aldenberg, T. and Slob, W. (1993). Confidence limits for hazardous concentrations based on logistically distributed NOEC toxicity data. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 25: 48-63.
- de Bruijn, J., Crommentuijn, T., van Leeuwen, K., van der Plassche, E. Sijm, D., van der Weiden, M. (1999): Environmental Risk Limits in The Netherlands, RIVM Report 601640001.
- ECETOC (1993) Environmental Hazard Assessment of Substances. Technical Report No. 51
- European Commission (1996) Technical Guidance Documents in Support of the Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Substances and the Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances
- European Commission (2002) Technical Guidance Document in Support of Commission Directive 93/67/EEC on Risk Assessment for New Notified Substances, Commission Regulation (EC) No 1488/94 on Risk Assessment for Existing Substances and Parliament and Council Directive 98/8/EC concerning the placing of Biocidal Products on the Market. Draft February 2002.
- Gibbons, R.D., Coleman, D.E. (2001) Statistical methods for detection and quantification of environmental contamination, John Wiley & Sons, New York, USA.
- Heger, W., S. M. Jung, S. Martin, H. Peter (1995) "Acute and Prolonged Toxicity to Aquatic Organisms of New and Existing Chemicals and Pesticides." *Chemosphere* Vol. 31, No. 2, 2707-2726.
- Kooijman, S.A.L.M. (1987). A safety factor for LC50 values allowing for differences in sensitivity among species. *Water Research*, 21: 269-276.
- OECD (1992a) Report of the OECD Workshop on Quantitative Structure Activity Relationships (QSARs) in Aquatic Effects Assessment. Environment Monograph No. 58,
- OECD (1992b) Report on the OECD Workshop on the Extrapolation of Laboratory Aquatic Toxicity Data to the Real Environment. Environment Monograph No. 59
- OECD (1992c) Report on the OECD Workshop on the Effects Assessment of Chemicals in Sediment. Environment Monograph No. 60
- OECD (1994) US EPA/EC Joint Project on the Evaluation of (Quantitative) Structure Activity Relationships. Environmental Monograph No. 88
- OECD (1995) Guidance Document for Aquatic Effects Assessment. Environment Monograph No. 92.
- OECD (2000) Guidance Document on Aquatic Toxicity Testing of Difficult Substances and Mixtures. Environmental Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 23.

- OECD (2001) Guidance Document on the Use of the Harmonised System for the Classification of Chemicals which are Hazardous for the Aquatic Environment. Environmental Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment No. 27.
- Posthuma, L., G.W. Suter II and T.P. Traas (2001). Species sensitivity distributions in ecotoxicology. CRR Press, Boca Raton Florida, USA.
- USEPA (1984) Estimation of "concern levels" for concentrations of chemical substances in the environment. A report from Health and Environmental Review Division, Environmental Effects Branch
- USEPA (1988) Estimating Toxicity of Industrial Chemicals to Aquatic Organisms using Structure Activity Relationships.
- USEPA (2000) ECOSAR: available from <http://www.epa.gov/oppt/newchems/21ecosar.htm>
- Van Straalen, N.M. and Denneman, C.A.J. (1989). Ecotoxicological evaluation of soil quality criteria. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 18: 241-251.
- Wagner, C. and Løkke, H. (1991). Estimation of ecotoxicological protection levels from NOEC toxicity data. *Water Research*, 25: 1237-1242.