

IC50 bacterie testen.

IC50 bacterie in Proteus model

In Proteus wordt gekeken of de RWZI faalt door inhibitie als gevolg van de onvoorziene lozing van een stof. Cmax (de geschatte concentratie van een stof in het relevante actiefslibvolume) wordt daartoe vergeleken met de waarde van IC50 bacterie (Ckritisch) van de betreffende stof. Als Cmax groter is dan Ckritisch, wordt ervan uitgegaan dat de RWZI faalt.

Invoer verplicht

Het invoeren van een waarde voor de IC50 bacterie als stofeigenschap is verplicht in Proteus. Wanneer er geen waarde wordt ingevuld door de gebruiker, vult Proteus automatisch een waarde in die is gebaseerd op een waarde gelijk aan 10 maal LC50 vis. Als er geen LC50-waarde bekend is, wordt in plaats daarvan de EC50 daphnia gebruikt en als er geen EC-50 is wordt IC50 alg gebruikt om de IC50 bacterie te schatten.

Geen maximumwaarde

In paragraaf 5.6 van de Handleiding Proteus 4.5 staat het volgende vermeld:
"Van stoffen waarvan de IC50 of een andere "kritische waarde" groter is dan 1.000 mg/l wordt verondersteld dat het effect op het functioneren van een RWZI niet relevant is."

De handleiding bevat op dit punt een onnauwkeurigheid. Een aantal jaren geleden is de grens van 1000 mg/l uit het programma verwijderd. Er wordt dus van uitgegaan dat de RWZI altijd zal kunnen falen wanneer de concentratie in de aeratie tank (het relevante actiefslib volume) groter is dan de IC50-waarde, dus ook als deze boven de 1000 mg/l ligt.

Welke IC50-waarde?

Niet alle testen met micro-organismen die een IC50 bacterie afleiden zijn relevant voor de werking van een RWZI. De voorkeur gaat uit naar testen die zo representatief mogelijk zijn voor de situatie. Dat sluit aan bij de adviezen in de Reach Guidance Document ¹ die gaan over PNECstp oftewel de predicted no effect level voor RWZI's. Globaal komt dat neer op het volgende:

1. De blootstellingsduur van een test moet relevant zijn voor de verblijftijd van de stof in de RWZI. De verblijftijd kan per installatie (conventioneel / Nereda) en per stof verschillen. Globaal ligt de verblijftijd in de orde van 10 tot 24 uur;
2. Het meten van de voornaamste functies van micro-organismen in een RWZI (de koolstofafbraak (BOD/COD) en nitrificatie) is belangrijk;
3. Een test met een gemengd inoculum (slib) heeft de voorkeur boven een test met een enkele soort;
4. Gezien het bovenstaande, is een actiefslib respiratietest volgens OECD TG 209 test de meest betrouwbare test voor Proteus.

Verdere adviezen uit de Guidance documents

De Guidance geeft advies over de relevantie van de verschillende informatievormen (QSARS, microbiologische testen, subcellulaire systemen, literatuur, handboeken, databases).

- Sommige bacteriesoorten worden afgeraden (*V. fischeri*, *E.coli*, *P. fluorescens*) om te vergelijken met RWZI functie,
- QSARS zijn nog niet relevant, net als subcellulaire systemen of testen waar andere karakteristieken worden gemeten, zoals luminescentie, celbeweeglijkheid e.d.
- Informatie uit positieve RBT testen kan worden gebruikt om een NOEC te bepalen, dus geeft mogelijk ook een indicatie over de afwezigheid van inhibitie bij een bepaalde stofconcentratie in de test.

Overzicht van geschikte testen voor IC50 bacterie

Een overzicht van testen die geschikt zijn om een PNECstp mee af te leiden (en dus ook geschikt zijn om de effecten van een stof op een RWZI in te schatten) is te vinden in REACH Guidance document R.10 (Tabel R.10-6)

(https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r10_en.pdf/bb902be7-a503-4ab7-9036-d866b8ddce69).

¹ REACH Guidance document R7.b (vanaf hoofdstuk R.7.8.16).

(https://echa.europa.eu/documents/10162/13632/information_requirements_r7b_en.pdf/1a551efc-bd6a-4d1f-b719-16e0d3a01919)