



Centrum pro výzkum
toxických látek
v prostředí



Model rozložení citlivosti druhů (Species Sensitivity Distribution; SSD)

Soňa Smetanová

smetanova@recetox.muni.cz

Úvod do SSD

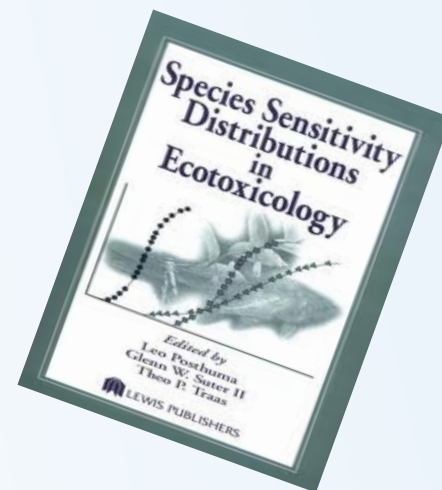
??? SSD – Species Sensitivity Distribution ???

→ v ČR pořád celkem neznámý a v pozadí zájmu

→ v Evropě čím dál více důležitý !

→ využití v hodnocení ekotoxikologických rizik
toxických látek a jejich účinků na ekosystémy

→ Co to tedy je???



Motivace – teoretický příklad praktického využití

U jedné továrny vyrábějící insekticid XY leží chráněné jezero, ve kterém žijí velmi vzácné druhy organismů.



Pro insekticid XY byl vytvořen **model SSD**, kterým byla stanovena bezpečná koncentrace nepoškozující ekosystém na 1,8 µg/l



Jednoho dne se v továrně stala nehoda, insekticid XY unikl do okolí a jeho koncentrace v jezeře byla 2 dny zvýšená na 9,6 µg/l. Poté začala klesat.



Podle již vytvořeného **SSD modelu** bylo nejen rychle zjištěno, že bezpečný limit látky XY byl překročen, ale dokonce i to, že tato koncentrace bude mít potenciálně negativní akutní vliv na 74% druhů žijících v jezeře a že je nutné začít neprodleně



Úvod do SSD

1. princip:

„Různé druhy organismů jsou různě citlivé k určité toxické látce“



Úvod do SSD

1. princip:

„Různé druhy organismů jsou různě citlivé k určité toxické látce“

Pseudokirchneriella subcapitata	řasa	7 µg/l
Chlorella vulgaris	řasa	26 µg/l
Lemna minor	vyšší rostlina	150 µg/l
Danio rerio	ryba	1 750 µg/l
Lepomis macrochirus	ryba	5 277 µg/l
Chironomus riparius	hmyz	15 049 µg/l
Daphnia magna	korýš	21 000 µg/l

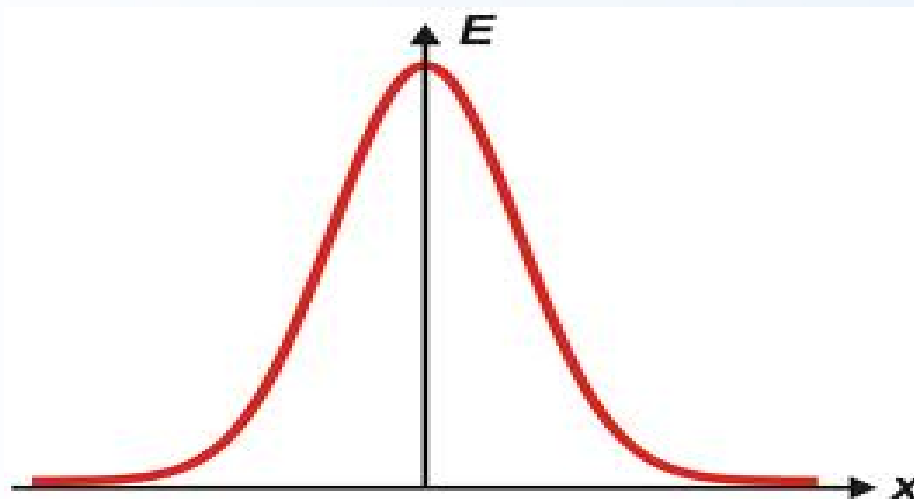
Akutní EC50 hodnoty pro herbicid alachlor



Úvod do SSD

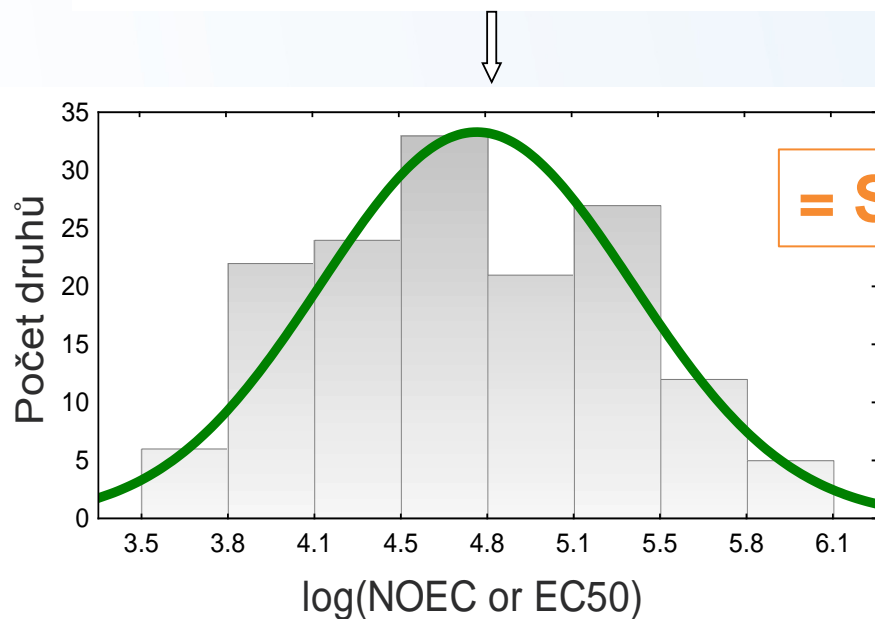
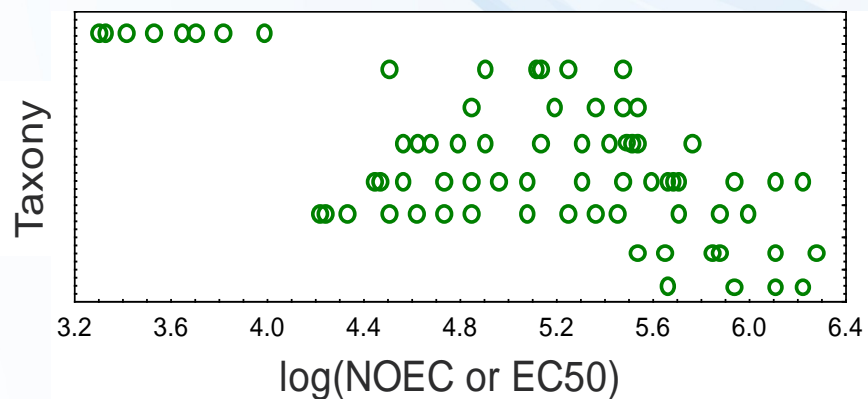
2. princip:

„Logaritmy citlivostí (log EC50 či log NOEC) všech druhů organismů z jednoho ekosystému mají normální (Gaussovo) rozložení“



Úvod do SSD

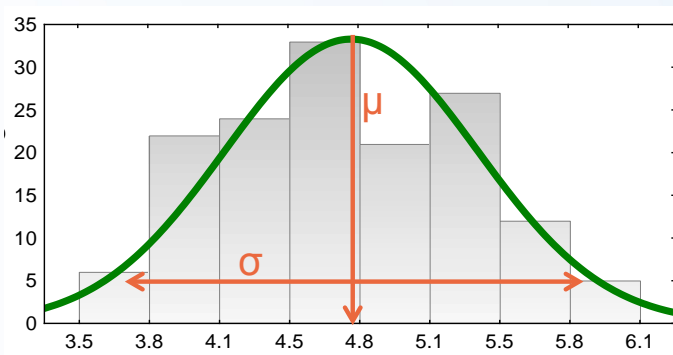
1. a 2. princip obrazem



Úvod do SSD

Výhoda normálního (Gaussova) rozložení

→ Pouze dva parametry: aritmetický průměr μ
 směrodatná odchylka σ



$$\mu = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i$$

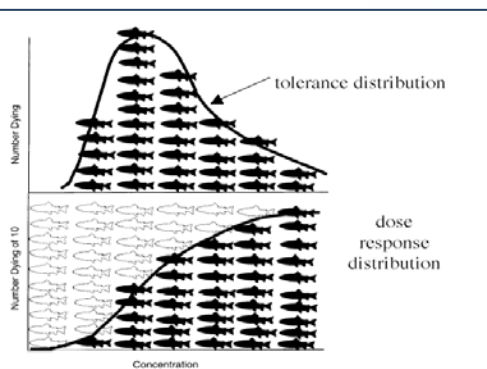
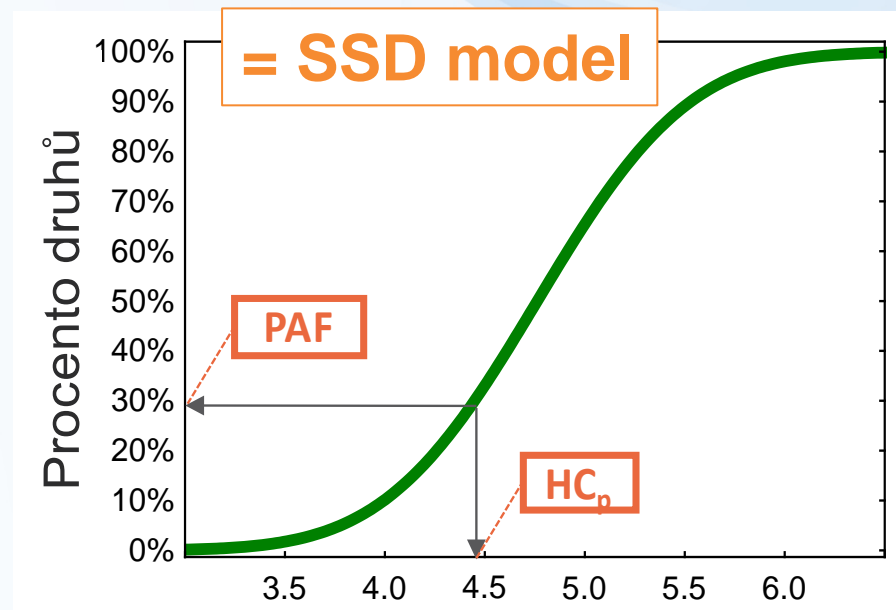
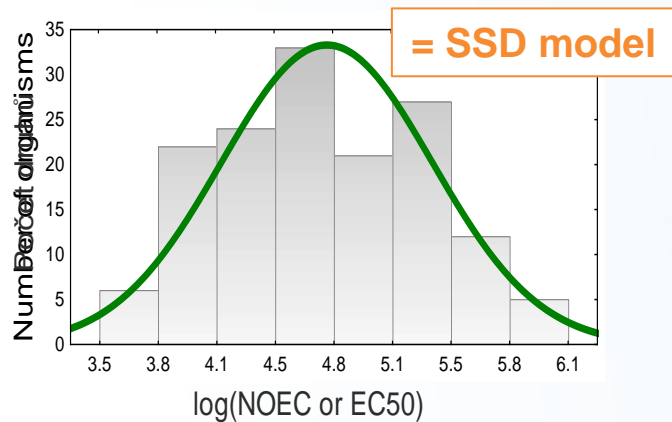
$$\sigma = \sqrt{\frac{1}{n} \sum_{i=1}^n (x_i - \mu)^2}$$



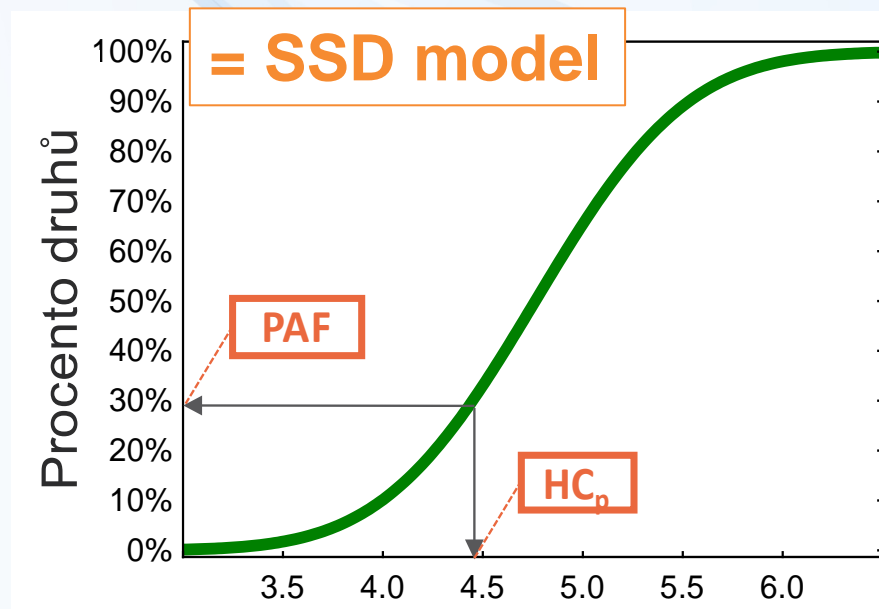
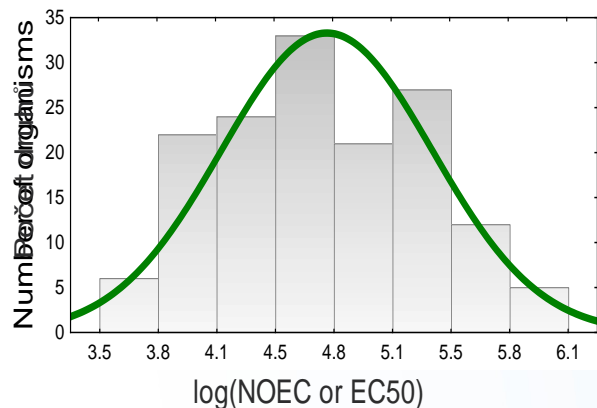
Úvod do SSD

K čemu použít Gaussovo rozložení?

→ Vyjádření pomocí kumulativní distribuční funkce a zjištění HC_p či PAF



K čemu použít Gaussovo rozložení?

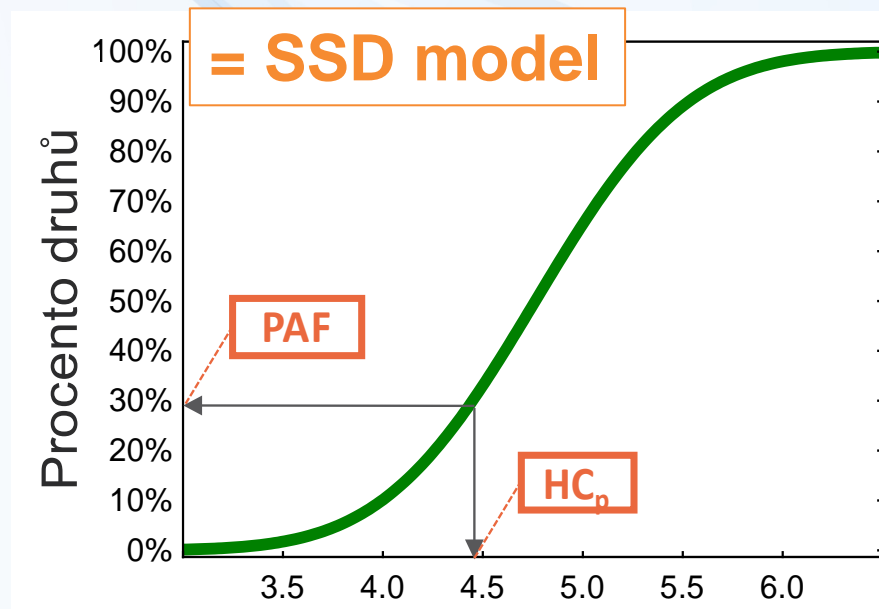
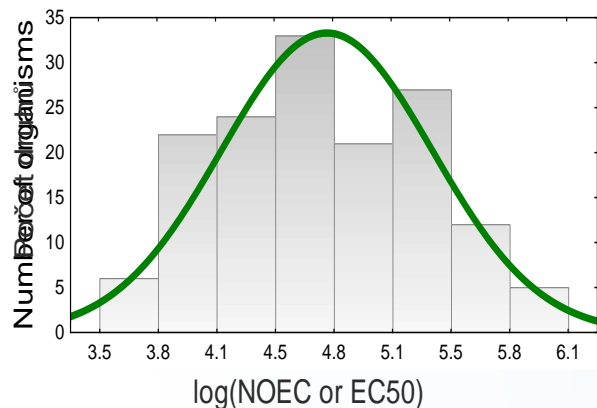


HC_p ... Hazard Concentration for p-percent of species

... „koncentrace toxické látky, která podle SSD modelu negativně ovlivní p-procent druhů organismů“



K čemu použít Gaussovo rozložení?



PAF ... Potentially Affected Fraction

... „frakce (procento) organismů, která bude negativně ovlivněna působením určité koncentrace dané toxické látky“



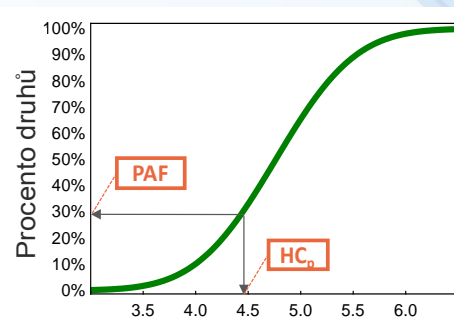
K čemu použít Gaussovo rozložení?

PAF

- kvantitativní zhodnocení ekotoxikologického stavu ekosystému

- (tj. retrospektivní analýza rizik)

! PAF = 6 % vs PAF = 62 % !



HCp

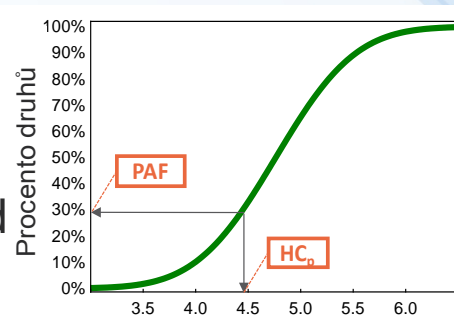
- stanovení PNEC (Predicted no-effect concentration) limitů
- (tj. prospektivní analýza rizik)
 - Evropa: HC₅ jako limit (~ taková koncentrace látky, která ještě nemá statisticky významný negativní účinek na společenství organismů v ekosystému)



Výhody PAF a HC_p oproti klasickým přístupům

PAF

- Kvantitativní zhodnocení negativních efektů (na rozdíl od běžně používaného přístupu „koncentrace látky v prostředí je pod/nad PNEC hodnotou“).



HC_p

- Menší nejistoty (limit odvozen z velkého množství taxonů a druhů, nejen ze tří standardních organismů, jak tomu je v případě klasických postupů)



Nízké faktory nejistoty
(Assessment factors)
aplikované na hodnoty HC₅ pro
zisk PNEC

Úvod do SSD

Výhody PAF a HCp oproti klasickým přístupům

Available data	Assessment factor
At least one short-term L(E)C50 from each of three trophic levels (fish, invertebrates (preferred <i>Daphnia</i>) and algae) (i.e. base set)	1000 ^{a)}
One long-term EC10 or NOEC (either fish or <i>Daphnia</i>)	100 ^{b)}
Two long-term results (e.g. EC10 or NOECs) from species representing two trophic levels (fish and/or <i>Daphnia</i> and/or algae)	50 ^{c)}
Long-term results (e.g. EC10 or NOECs) from at least three species (normally fish, <i>Daphnia</i> and algae) representing three trophic levels	10 ^{d)}
Species sensitivity distribution (SSD) method	5-1 (to be fully justified case by case) ^{e)}
Field data or model ecosystems	Reviewed on a case by case basis ^{f)}

Faktory nejistoty pro získání PNEC hodnot; faktory se liší podle zvolené metody (Guidance Document EU CIS-WFD No. 27)



Tvorba SSD modelu – vstupní data

→ Online databáze

(např. US EPA ECOTOX: <http://cfpub.epa.gov/ecotox> či IUCLID Chemical Data Sheets: <http://esis.jrc.ec.europa.eu>)

- chronické NOEC / akutní EC50 hodnoty ...

Pozor na odlišný význam SSD modelu

- Sladkovodní/slanovodní/suchozemské druhy

- Akutní EC50 (např. 1-4 dny či 1-7 dní) / chronické NOEC



Tvorba SSD modelu – vstupní data

- Vhodné akutní efekty s přímým vlivem na změnu abundance a složení společenství organismů (růst, biomasa, mortalita, imobilizace)
- Hodnoty EC50 (či NOEC) vzniklé testováním čistých látek (min. 90%)
- ? Výběr pouze některých taxonů ?
(např. pouze primární producenti pro SSD herbidicu alachloru)
- Kontrola a odstranění replikací a podezřelých údajů
- Převod všech hodnot na stejné jednotky ($\mu\text{g/l}$)



Tvorba SSD modelu – vstupní data

A	D	E	F	G	H	I	M	O	Q	R	S	T	V	AA	AB	AL	AD	AE	AF	AG	AH	AK	AL	AM	AN	AO	AP	AQ	
číslo	Species Scientific Palaemo	Species Common Grass	Species Group Crustace	Endpoint	Effect	Effect Measure	Exposure Duration	Min Duration	Max Duration	Duration Units	Exposure Type	Trend	Effect Percent	Conc 1 Type	Conc 1 Op (ug/L)	Conc 1 (ug/L)	Conc 1 Min Op	Conc 1 Conc Min 1 (ug/L)	Conc 1 Max Op	Conc 1 Conc 1 Max (ug/L)	Conc Units	Media Type	Test Location	Referenc e	Author	Title	Source	Publicati on Year	poz
536	netes	Shrimp,Fans	Emerald	LC50	MOR	MORT	1 NR	NR	d	S	INC	NR	F	>	5600	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	6797	F.L.Jr.,	Manual of Acute Pesticide	Resour.Publ.No.1	1986	con	
185	Notropis	Shiner	Fish	LC50	MOR	MORT	4 NR	NR	d	S	NR	NR	F	>	18000	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	344	Office of Pesticide	Pesticide	Environmental	2000	con	
175	Carassiu	Goldfish	Fish	LC50	MOR	MORT	4 NR	NR	d	S	NR	NR	F	>	32000	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	344	Office of Pesticide	Pesticide	Environmental	2000	con	
187	Oncorhy nchus	Rainbow Trout	Fish	LC50	MOR	MORT	4 NR	NR	d	R	NR	NR	F	>	82000	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	344	Office of Pesticide	Pesticide	Environmental	2000	con	
525	Pseudok rchneriel	Green Algae	Moss,	EC50	PHY	PSYN	1 NR	NR	d	S			NR	A		2.24		1.74		2.90	ug/L	FW	LAB	11780	Turbak, S.C., S.B.	Comparison of The Acta	Water Res.	1986	
617	Spirulina	Blue-Green	Algae, Moss,	LC50	POP	PGRT	14 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		6	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	17259	Bednarz, T.	The Effect of Hydrobio	Acta	1981		
611	Chloroco ccum sp.	Green Algae	Moss,	LC50	POP	PGRT	14 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		8	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	17259	Bednarz, T.	The Effect of Hydrobio	Acta	1981		
614	Oscillato ria sp.	Blue-Green	Algae, Moss,	LC50	POP	PGRT	14 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		8.2	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	17259	Bednarz, T.	The Effect of Hydrobio	Acta	1981		
158	Anabaen a	Blue-Green	Algae, Moss,	EC50	POP	ABND	5 NR	NR	d	S	NR	NR	F		36		30		42	ug/L	FW	LAB	344	Office of Pesticide	Pesticide	Environmental	2000		
88	Selenast rum sp.	Green Algae	Moss,	IC50	POP	ABND	3 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		48.6	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	84045	Kamaya, Y., T.	Effect of Medium Aquat.Toxicol.	Bull.Envi ron.Cont	2004		
123	Chlorella fusca	Green Algae	Moss,	EC50	POP	PGRT	1 NR	NR	d	S			NR	F		56.9	NR		NR	ug/L	FW	LAB	62304	Faust, M., R.	Predictin g the	Acta	2001		
89	Selenast rum sp.	Green Algae	Moss,	IC50	POP	ABND	3 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		57.3	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	84045	Kamaya, Y., T.	Effect of Medium Aquat.Toxicol.	Bull.Envi ron.Cont	2004		
616	Scenede smus	Green Algae	Moss,	LC50	POP	PGRT	14 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		65	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	17259	Bednarz, T.	The Effect of Hydrobio	Acta	1981		
441	Chlorella fusca	Green Algae	Moss,	EC50	POP	GPOP	1 NR	NR	d	S	NR	NR	F		73	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	4332	Faust, M., R.	Additive Effects of Environ.	Sci.Total Environ.	1993		
90	Selenast rum sp.	Green Algae	Moss,	IC50	POP	ABND	3 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		73.6	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	84045	Kamaya, Y., T.	Effect of Medium Aquat.Toxicol.	Bull.Envi ron.Cont	2004		
124	Chlorella pyrenoid	Green Algae	Moss,	EC50	POP	PGRT	4 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		82	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	61983	Ma, J., W. Liang.	Acute Toxicity The Acta	Bull.Envi ron.Cont	2001		
608	Ankistro desmus	Green Algae	Moss,	LC50	POP	PGRT	14 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		87	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	17259	Bednarz, T.	The Effect of Hydrobio	Acta	1981		
160	Navicula pelliculo	Diatom	Algae, Moss,	EC50	POP	ABND	5 NR	NR	d	S	NR	NR	F		90		80		100	ug/L	FW	LAB	344	Office of Pesticide	Pesticide	Environmental	2000		
773	Perca sp.	Perch	Fish	LC50	MOR	MORT	4 NR	NR	d	S			NR	F		90	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	7199	Bathe, R., K.	The Evaluati The Acta	Proc.Eur. Soc.Toxic	1975	
613	Hor midi	Algae	Moss,	LC50	POP	PGRT	14 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		90	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	17259	Bednarz, T.	The Effect of Hydrobio	Acta	1981		
499	Pseudok rchneriel	Green Algae	Moss,	EC50	POP	ABND	4 NR	NR	d	NR	DEC	NR	A		100		85		107	ug/L	FW	LAB	17639	Versteeg, D.J.	Compari son of W.Wang,	In: W.Wang,	1990	exp	
162	Pseudok rchneriel	Green Algae	Moss,	EC50	POP	ABND	5 NR	NR	d	S	NR	NR	F		100		90		110	ug/L	FW	LAB	344	Office of Pesticide	Pesticide	Environmental	2000		
527	Algae	Algae	Moss,	LC50	POP	BMAS	42 NR	NR	d	E			NR	F		100	NR		NR	NR	ug/L	FW	FIELDA	12264	Goldsbor ough, Bednarz, T.	Changes in Hydrobio logia Acta	Hydrobio	1986	
609	Chlorella pyrenoid	Green Algae	Moss,	LC50	POP	PGRT	14 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		100	NR		NR	NR	ug/L	FW	LAB	17259	Bednarz, T.	The Effect of Hydrobio	Acta	1981		

Tvorba SSD modelu – vstupní data

A	D	E	F	G	H	I	M	U	Q	R	S	T	V	AA	AB	AL	AD	AE	AF	AG	AH	AK	AL	AM	AN	AO	AP	AQ	
číslo	Species Scientific	Species Common	Species Group	Endpoint	Effect	Effect Measure	Exposure Duration	Min Duration	Max Duration	Duration Units	Exposure Type	Trend	Effect Percent	Conc 1 Type	Conc 1 Op (ug/L)	Conc 1 (ug/L)	Conc 1 Min Op	Conc 1 (ug/L)	Conc 1 Max Op	Conc 1 (ug/L)	Conc 1 Units	Media Type	Test Location	Reference	Author	Title	Source	Publication Year	poz
536	netes	Shrimp,Fans	Grass	LC50	MOR	MORT	1 NR	NR	d	S	INC	NR	F	>	5600	NR		NR		ug/L	FW	LAB	6797	F.L.Jr.,	Manual of Acute	Resour.Publ.No.1	1986	con	
185	Notropis	Emerald Shiner	Fish	LC50	MOR	MORT	4 NR	NR	d	S	NR	NR	F	>	18000	NR		NR		ug/L	FW	LAB	344	Office of Pesticide	Pesticide	Environmental	2000	con	
175	Carassius	Goldfish	Fish	LC50	MOR	MORT	4 NR	NR	d	S	NR	NR	F	>	32000	NR		NR		ug/L	FW	LAB	344	Office of Pesticide	Pesticide	Environmental	2000	con	
187	Oncorhynchus	Rainbow Trout	Fish	LC50	MOR	MORT	4 NR	NR	d	R	NR	NR	F	>	82000	NR		NR		ug/L	FW	LAB	344	Office of Pesticide	Pesticide	Environmental	2000	con	
52	Pseudokirchneriella	Green Algae	Moss,	EC50	PHY	PSYN	1 NR	NR	d	S		NR	A		2.24			1.74		2.90	ug/L	FW	LAB	11780	Turbak, S.C., S.B.	Comparison of The	Water Res. Acta	1986	
617	Spirulina platensis	Blue-Green Algae	Moss,	LC50																								1981	
611	Chlorococcum sp.	Green Algae	Moss,	LC50																								1981	
614	Oscillatoria sp.	Blue-Green Algae	Moss,	LC50																								1981	
158	Anabaena	Blue-Green Algae	Moss,	EC50																								2000	
88	Selenastrium sp.	Green Algae	Moss,	IC50																								2004	
123	Chlorella fusca	Green Algae	Moss,	EC50																								2001	
80	Selenastrium sp.	Green Algae	Moss,	IC50																								2004	
616	Scenedesmus	Green Algae	Moss,	LC50	POP	PGRT	14 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		65	NR		NR		ug/L	FW	LAB	17259	T.	Effect of Additive	Hydrobio Sci.Total	1981		
44	Chlorella	Green Algae	Moss,	EC50	POP	GPOP	1 NR	NR	d	S	NR	NR	F		73	NR		NR		ug/L	FW	LAB	4332	Faust, M., R.	Effects of Environ.	Bull.Environ.Cont	1993		
90	Selenastrium sp.	Green Algae	Moss,	IC50	POP	ABND	3 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		73.6	NR		NR		ug/L	FW	LAB	84045	Kamaya, Y., T.	Effect of Medium	Bull.Environ.Cont	2004		
124	Chlorella pyrenoides	Green Algae	Moss,	EC50	POP	PGRT	4 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		82	NR		NR		ug/L	FW	LAB	61983	Ma, J., W. Liang	Acute Toxicity	Bull.Environ.Cont	2001		
608	Ankistrodesmus	Green Algae	Moss,	LC50	POP	PGRT	14 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		87	NR		NR		ug/L	FW	LAB	17259	Bednarz, T.	The Acta	Hydrobio	1981		
160	Navicula pelliculosa	Diatom	Moss,	EC50	POP	ABND	5 NR	NR	d	S	NR	NR	F		90		80		100	ug/L	FW	LAB	344	Office of Pesticide	Pesticide	Environmental	2000		
773	Perca sp.	Perch	Fish	LC50	MOR	MORT	4 NR	NR	d	S		NR	F		90	NR		NR		ug/L	FW	LAB	7199	Bathe, R., K.	The Acta	Hydrobio	1975		
613	Hormidium	Algae	Moss,	LC50	POP	PGRT	14 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		90	NR		NR		ug/L	FW	LAB	17259	T.	Effect of In:	Hydrobio	1981		
49	Pseudokirchneriella	Green Algae	Moss,	EC50	POP	ABND	4 NR	NR	d	NR	DEC	NR	A		100			85		107	ug/L	FW	LAB	17639	Versteeg, D.J.	Comparison of Pesticide	W.Wang, Environ	1990	exp
180	Pseudokirchneriella	Green Algae	Moss,	EC50	POP	ABND	5 NR	NR	d	S	NR	NR	F		100			90		110	ug/L	FW	LAB	344	Office of Pesticide	Pesticide	Environmental	2000	
527	Algae	Algae	Moss,	LC50	POP	BMAS	42 NR	NR	d	E		NR	F		100	NR		NR		ug/L	FW	FIELDA	12264	Goldsborough, Bednarz, T.	Changes in The Acta	Hydrobio	1986		
609	Chlorella pyrenoides	Green Algae	Moss,	LC50	POP	PGRT	14 NR	NR	d	S	DEC	NR	F		100	NR		NR		ug/L	FW	LAB	17259	T.	Effect of	Hydrobio	1981		

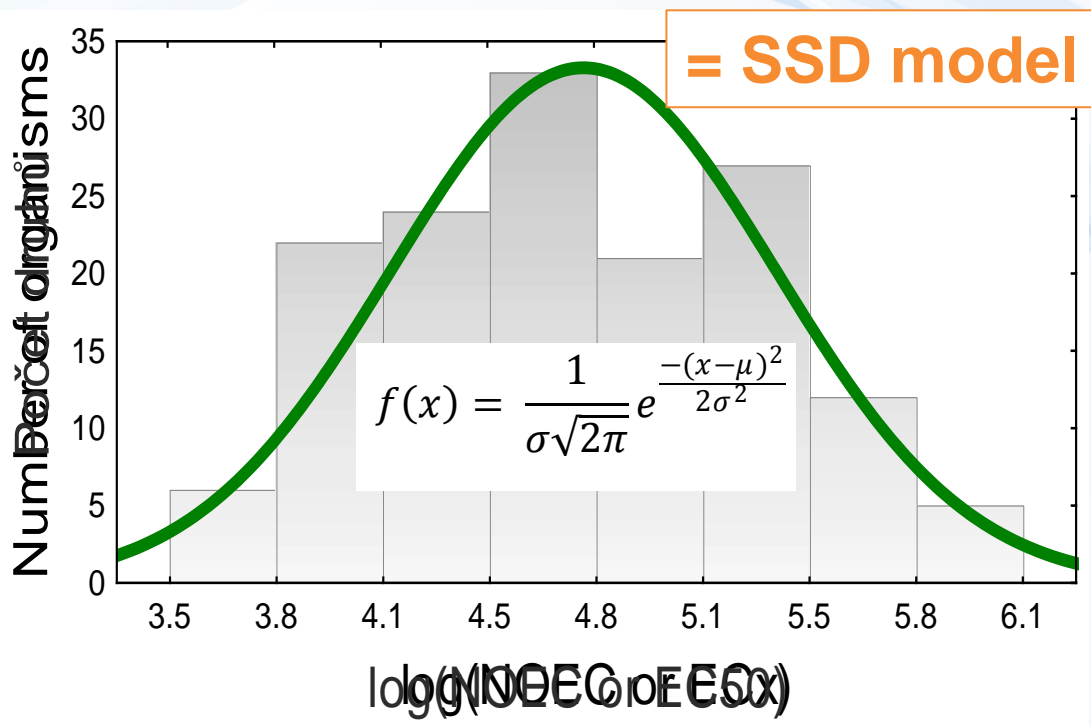
• do SSD vždy pouze jedna EC50 (NOEC) hodnota pro jeden druh



a) Druhovú EC50 s nejnižší hodnotou

b) průměr všech EC50 hodnot pro tento druh

Tvorba SSD modelu – aproximace Gaussovou distribucí



μ ... aritmetický průměr
 σ ... směrodatná odchylka
 x ... hodnota na ose x
(hodnota $\log(\text{EC}50)$ z databáze), pro kterou funkce vypočítá hustotu pravděpodobnosti $f(x)$

→ ETX 2.0 software / Statistica software



Tvorba SSD modelu – ověření normality

a) Testy normality

(Anderson-Darling nebo Kolmogorov-Smirnov test)

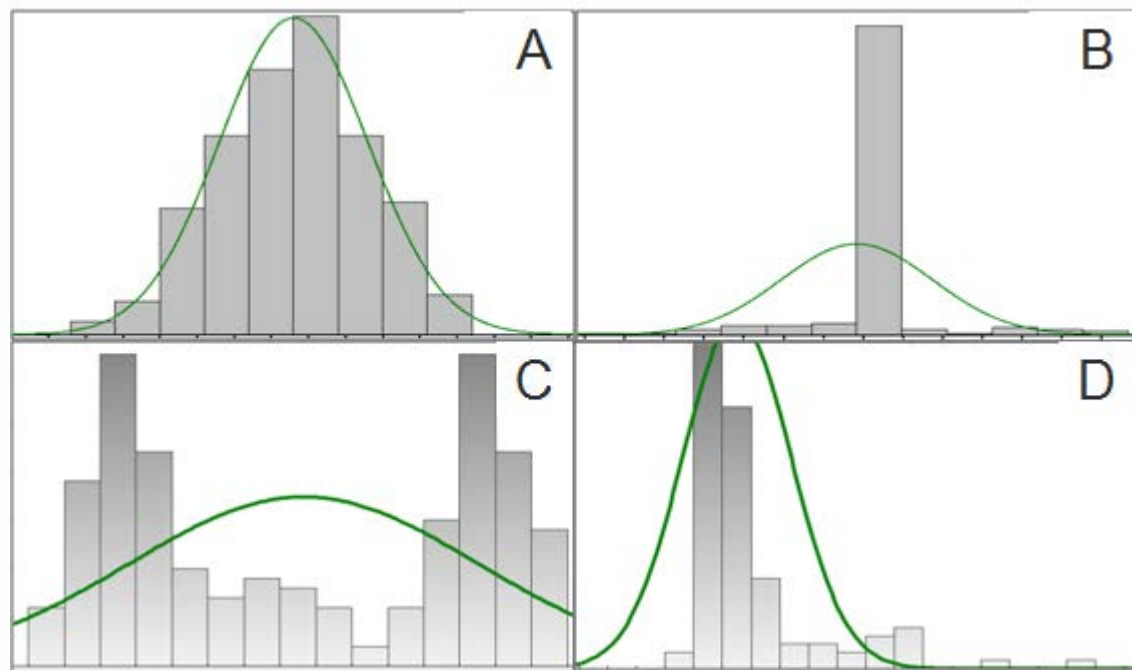
- $p > 0,05 \rightarrow$ použitá data logEC50 (či logNOEC) splňují normalitu a aproximace Gaussovou (normální) distribucí je adekvátní
- $p < 0,05 \rightarrow$???

b) Optické posouzení



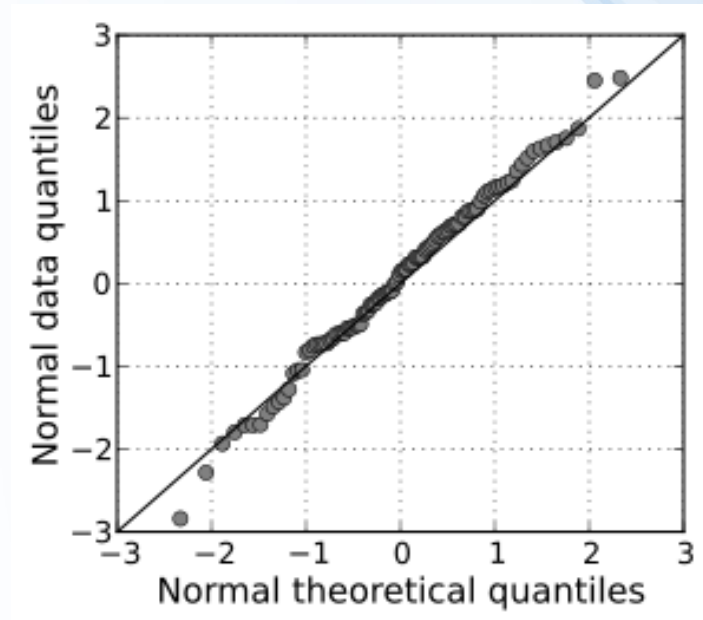
Tvorba SSD modelu – ověření normality

b) Optické posouzení – z histogramu



Tvorba SSD modelu – ověření normality

b) Optické posouzení – z P-P plotu či Q-Q plotu



Q-Q plot

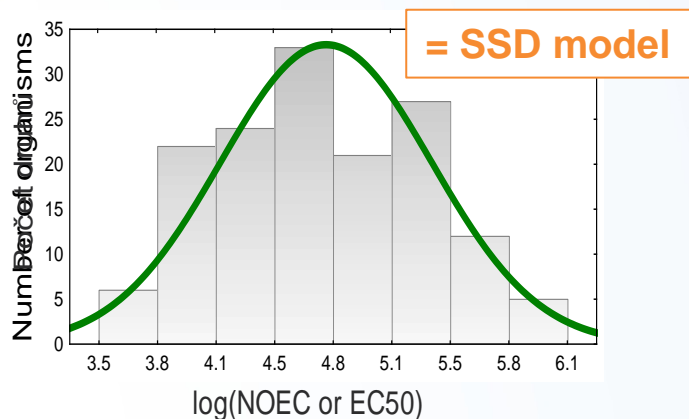


Tvorba SSD modelu – výpočet HCp a PAF

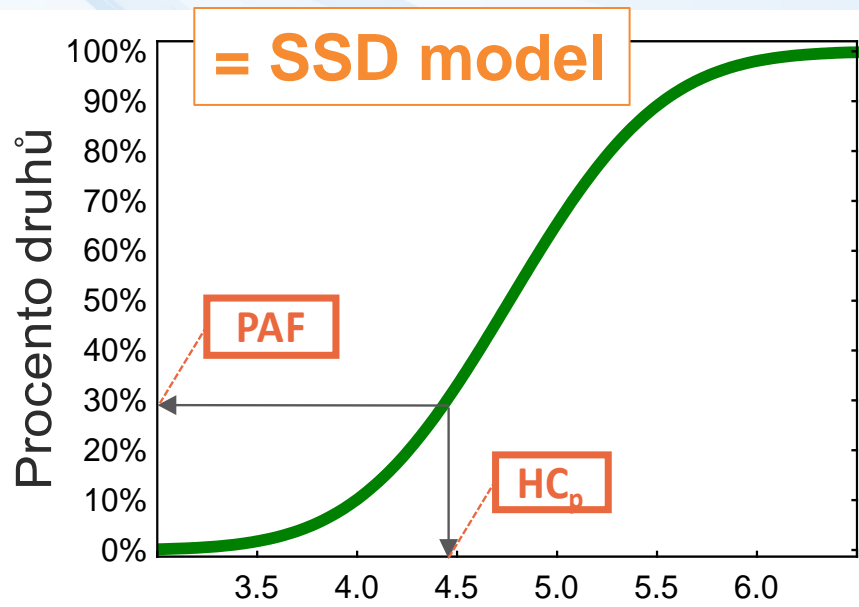
Hustotní funkce



Kumulativní distribuční funkce



$$f(x) = \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}}$$



$$F(x) = \int_{-\infty}^x \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} dx$$

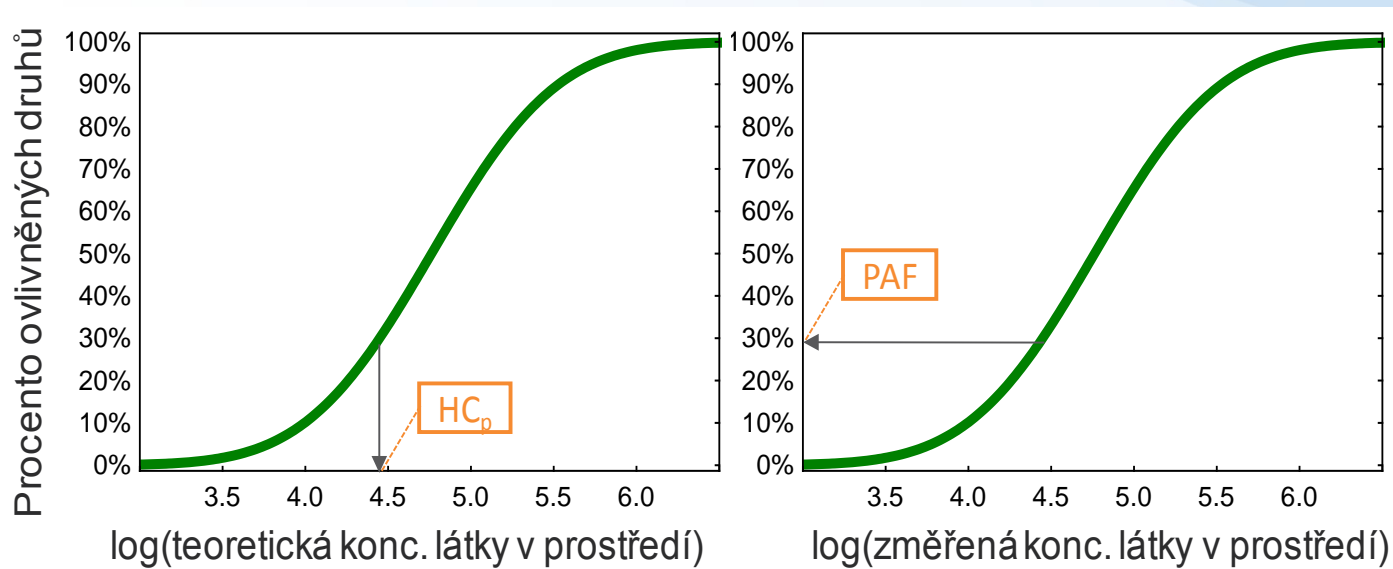


Tvorba SSD modelu – výpočet HCp a PAF

$$F(x) = \int_{-\infty}^x \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} dx$$

○ ... známé parametry modelu

!! Změna významu osy x (už ne logEC50 či logNOEC) !!



Tvorba SSD modelu – výpočet HCp a PAF

$$F(x) = \int_{-\infty}^x \frac{1}{\sigma\sqrt{2\pi}} e^{-\frac{(x-\mu)^2}{2\sigma^2}} dx$$

Výpočet PAF (tj. $F(x)$) a HCp (tj. 10^x) ne úplně triviální



ETX 2.0

Excel (funkce NORMDIST a NORMINV)



Modifikace SSD modelu

- Aproximace rozložení $\log(\text{EC50})$ či $\log(\text{NOEC})$ hodnot jinou než Gaussovou (normální) distribucí : logistická, triangulární, ...
- Použití neparametrických technik či Bayesovské statistiky pro tvorbu SSD modelu
 - Použití pouze vybraných taxonomických skupin (např. primárních producentů v případě tvorby SSD modelu pro herbicid)



Limitace SSD modelu

- Je HC₅ opravdu dostatečný limit ?
- Jaké je minimální množství druhových dat sensitivity (např. hodnot logEC50), aby z nich vytvořený SSD model nebyl výrazně zkreslený?
(EU doporučuje minimálně 10 hodnot z různých taxonomických skupin)
- Jsou splněny základní předpoklady SSD metody?
(resp. Vadí jejich nesplnění?)



Limitace SSD modelu

Základní předpoklady SSD metody

- Hodnoty EC50 (či NOEC) v databázi pro SSD popisují citlivost náhodného a reprezentativního výběru společenstva organismů
 - Laboratorní sensitivita odpovídá reálné
 - Neexistují „důležitější“ druhy
 - Neexistují interakce mezi druhy
 - Neexistují další environmentální faktory ovlivňující sensitivitu



Limitace SSD modelu

„Všechny modely jsou špatně.
Některé ale mohou být užitečné.“

George E. P. Box

... A model Species Sensitivity Distribution se užitečným být zdá...



Závěr – návrat k teoretickému příkladu

U jedné továrny vyrábějící insekticid XY leží chráněné jezero, ve kterém žijí velmi vzácné druhy organismů.



Byla vytvořena databáze vhodných akutních EC50 hodnot látky XY pro různé sladkovodní druhy a z logaritmů těchto hodnot byl vytvořen model SSD, kterým byla stanovena bezpečná koncentrace nepoškozující ekosystém **neboli HC₅ (XY)**

na 1,8 µg/l



Jednoho dne se v továrně stala nehoda, insekticid XY unikl do okolí a jeho koncentrace v jezeře byla 1 den zvýšená na 9,6 µg/l. Poté začala klesat.



Podle již vytvořeného SSD modelu bylo nejen rychle zjištěno, že bezpečný limit látky XY byl překročen, ale dokonce i to, že tato koncentrace bude mít potenciálně **negativní akutní vliv na 74% druhů žijících v jezeře (PAF = 74%)**

