

NY

# 中华人民共和国农业行业标准

NY/T xxxx—xxxx

## 化学农药 鸟类急性经口毒性试验准则

Chemical pesticide—Guideline for avian acute oral toxicity test  
(征求意见稿)

xxxx-xx-xx发布

xxxx-xx-xx实施

中华人民共和国农业农村部 发布

## 前 言

本标准按照GB/T 1.1-2009给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由农业农村部种植业管理司提出并归口。

本标准负责起草单位：

本标准主要起草人：

# 化学农药 鸟类急性经口毒性试验准则

## 1 范围

本标准规定了用序贯法测定鸟类急性经口毒性的概述、试验方法、试验程序、数据处理、质量控制以及试验报告等的基本要求。

本标准适用于化学农药，生物化学农药和植物源农药可参照执行，不适用于微生物农药。

## 2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 31270.9-2014 化学农药环境安全评价试验准则 第9部分：鸟类急性毒性试验

NY/T 2882.3 农药登记 环境风险评估指南 第3部分：鸟类

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**半致死剂量** median lethal dose

给予实验动物被试物后，可引起50%实验动物死亡的毒物统计学剂量，用LD<sub>50</sub>表示。

注：单位为mg a.i./kg 体重。

### 3.2

**逆转** reversal

在两个相邻的处理组中，低剂量处理组的死亡率高于高剂量处理组死亡率的现象。

### 3.3

**部分死亡** partial kill

多只鸟类给予同样剂量的被试物，死亡率介于0和100%之间的现象。

## 4 试验概述

试验由多个阶段组成，每个阶段将被试物按设计剂量经口灌喂至鸟类嗉囊或腺胃。给药后，观察14 d，通常根据给药后3 d各处理组鸟类的死亡情况估算LD<sub>50</sub>设置下一阶段的试验剂量。以全部阶段的试验结果计算被试物对鸟类的LD<sub>50</sub>、置信区间和剂量-效应曲线斜率。

## 5 试验方法

### 5.1 实验动物选择

实验动物应满足以下要求：

——物种宜选择吐食习性低的鸟类，如鸡形目的日本鹌鹑 (*Coturnix japonica*) 或山齿鹑 (*Colinus virginianus*)；为开展物种敏感性分布，可选择雁形目的绿头鸭 (*Anas platyrhynchos*)、鸽形目的原鸽 (*Columba livia*)、雀形目的斑胸草雀 (*Poephila guttata*)、鸚形目的虎皮鸚鵡 (*Melopsittacus undulatus*) 等鸟类；

——所选择鸟类在本实验室中的自然死亡率应 $\leq 1\%$ ；

——应选择人工繁育的鸟类，不应使用野生鸟类；

——试验所用鸟类应为不处于繁殖期的成鸟；

——宜使用野生表型的鸟类，不能使用野生表型时应选择不同表型杂交的鸟类；

——试验所用鸟类应为同一来源、同一繁殖种群，宜定期远亲交配以保持遗传异质性；

——试验所用鸟类日龄应大致相同。

试验可使用单一性别鸟类，也可混用雌鸟和雄鸟。对于可能导致雌雄鸟类敏感性差异的被试物，试验设计应能分别计算对雌性和雄性的  $LD_{50}$ 。

## 5.2 实验动物驯养和试验条件

每处理 1 只鸟时，应单笼饲养；每处理多只鸟类时，至少在给药后前 3 d 应单笼饲养以便观察并记录每只鸟的症状。对斑胸草雀等群居物种，鸟笼应紧靠在一起，其他物种也宜将鸟笼紧靠在一起。每只鸟最小栖息面积为：原鸽 3333  $cm^2$ 、绿头鸭 2000  $cm^2$ 、鹌鹑 1000  $cm^2$ 、斑胸草雀和虎皮鸚鵡 500  $cm^2$ 。鹌鹑和绿头鸭的鸟笼最低高度分别为 24 cm 和 32 cm。鸟笼底部应为网状结构，网眼大小应能使粪便落下且不应影响鸟类活动。原鸽、斑胸草雀和虎皮鸚鵡的鸟笼中应设置栖木。

试验可在人工控制的环境下进行，也可在环境温度和湿度下进行。鹌鹑和绿头鸭的试验温度应为 15  $^{\circ}C$ ~27  $^{\circ}C$ ，但试验期间波动应尽可能小。鸟类饲养和观察室内应通风良好，空气每小时至少交换 10 次。鹌鹑和绿头鸭每日光照时间为 8 h，其他鸟类可延长至 10 h。应提供充足的饲料和水，并及时更换。可使用商品饲料和维生素，但应符合所用物种的营养需求。试验期间和给药前 14 d 应避免药物治疗。饲料和水应定期测定重金属（如砷、镉、铅、汞、硒等）和持久性农药（如有机氯农药等）等污染物。

## 5.3 实验动物准备

每只鸟类均应有单独标识。试验开始前应在试验条件下预养至少 14 d，预养期间鸟类死亡率 $>5\%$ 的鸟类不应用于试验。

## 5.4 给药

被试物置于胶囊中或溶解、分散于合适的载体后，经口灌喂至鸟类嗉囊或腺胃。当被试物可被水溶解或分散时，应首先考虑使用水作为载体，其次可考虑溶解或乳化于玉米油等食用油中，均不可行时再考虑其他载体。使用水以外的载体时，应了解载体的毒性，载体不应引起吐食。

每只鸟的给药剂量应根据给药前 24 h 内所测体重确定。给药体积应尽量小，不应超过 1 mL/100 g 体重，同一试验应保持相同的给药体积/体重比。给药前一晚鸟类应禁食 12 h~15 h，鹌鹑等较大的鸟类宜整夜禁食，体重≤50 g 的鸟类应禁食 2 h。

注：可用食用色素亮蓝（CAS：3844-45-9）等与粪便颜色明显不同的无毒染料使饲料染色，以观察是否出现吐食现象。吐食可能与给药技术或被试物性质有关，减少给药体积、使用胶囊或更换载体可能消除或降低吐食频率。特别是使用雀形目鸟类时，宜先进行预试验来评估试验用鸟类的吐食习性，如果仍然存在吐食现象应考虑更换另一种鸟类。鸟类存在吐食现象时不能精确计算出 LD<sub>50</sub>，仅能得出被试物的 LD<sub>50</sub> 大于引发吐食和死亡的最低剂量。

## 5.5 观察

给药后按以下要求确定观察频率和时间：

- 给药后 0 h~2 h 应持续观察鸟的中毒症状及是否出现吐食；
- 给药后 2 h~1 d 应在光照期内至少等间隔观察 3 次中毒症状；
- 给药后 2 d~14 d 每日应至少观察 1 次中毒症状；
- 给药后 14 d 仍能观察到中毒症状或死亡时，应延长观察时间至无中毒症状，某一试验阶段延长观察时间，后续试验阶段也应延长观察时间。

应观察记录每只动物的吐食、中毒症状及缓解表现、异常行为、体重，死亡鸟类应记录死亡时间。

物理损伤等明显不是被试物导致的偶然死亡应在结果计算中排除。对照组出现偶然死亡时，应增加对照组的鸟类数量。

应在给药前及给药后 3 d、7 d 和 14 d 测定鸟的体重；给药后 0 d~2 d 应每日测定食物消耗量，其后应测定 3 d~7 d 和 7 d~14 d 的食物消耗量。若延长观察时间，最后一次体重和食物消耗量应在试验结束时测定。试验结束时对处理组和对照组的所有鸟类（包括未死亡鸟类）进行大体解剖以鉴别偶然死亡和中毒症状，处理组和对照组均未出现死亡和中毒症状可不解剖。

试验期间，鸟类有明显的疼痛或处于濒死状态（按附录 A 判断）时，经试验项目负责人评估继续观察不能得出对试验有用的信息时，应实施安乐死并计入死亡数。

## 6 试验程序

### 6.1 限度试验

对毒性可能较低的被试物,宜开展限度试验。按 NY/T 2882.3 计算出的鸟类  $PED_{acute}$  或  $2000\text{mg/kg}_{\text{体重}}$  (取高值) 设置限度试验剂量, 处理组和对照组各 5 只鸟, 给药后观察 14 d。若处理组鸟类均未死亡, 表明在 95% 置信水平下被试物的  $LD_{50} >$  限度剂量, 试验可终止。限度试验的流程按附录 B 的图 B.1。

若处理组中有 1 只鸟类死亡, 其他鸟类未出现中毒症状, 可再用 5 只鸟按限度剂量给药并观察 14 d。若整个处理组 10 只鸟中仅有 1 只死亡、其他鸟类未出现中毒症状, 表明在 95% 置信水平下被试物的  $LD_{50} >$  限度剂量, 试验可终止。经试验项目负责人和委托方协商也可不进行第 2 次限度剂量给药, 直接进行序贯法试验第 2 阶段试验。

若处理组鸟类全部死亡, 进行序贯法试验的第 1 阶段试验。

若 5 只鸟的处理组中有 1 只鸟类死亡且其余鸟类出现中毒症状、或有 2 只~4 只鸟类死亡, 或 10 只鸟的处理组中出现 2 只或 2 只以上死亡时, 进行序贯法试验的第 2 阶段试验。按附录 C 估算  $LD_{50}$ , 当限度剂量为  $2000\text{mg/kg}_{\text{体重}}$  时可按表 1 估算。

表 1 根据限度试验死亡率估算  $LD_{50}$

死亡率 (%)	10	20	30	40	50	60	70	80	90
预估 $LD_{50}$ ( $\text{mg/kg}_{\text{体重}}$ )	3606	2944	2541	2244	2000	1782	1574	1358	1109

第 2 次限度剂量给药或序贯法试验可在 14 d 观察期内开始。

## 6.2 序贯法试验

### 6.2.1 序贯法试验概述

对毒性可能较高的被试物, 可直接开展序贯法试验。序贯法试验的流程按附录 B 的图 B.2, 典型的 4 个阶段试验、14 天观察期的时间线示例参见附录 D 的图 D.1。

当试验目的是为开展物种敏感性分布而获得  $LD_{50}$  时, 可仅进行第 1 阶段和第 2 阶段的试验, 并计算  $LD_{50}$ , 但此时无法得出置信区间。

若根据限度试验处理组的鸟类死亡情况应进行序贯法试验时, 也可按 GB/T 31270.9-2014 的 4.2.1.1 和 4.2.1.2 的要求开展预实验和正式试验, 但开展试验时对实验动物、给药和观察的要求应符合本标准。

当 2 个以上处理组出现部分死亡或逆转时, 采用最大似然法计算被试物对鸟类的  $LD_{50}$ 。判断部分死亡和逆转的示例参见附录 E。

### 6.2.2 第 1 阶段

#### 6.2.2.1 确定剂量

按以下要求确定第 1 阶段试验的试验剂量：

- 根据预实验结果或被试物对其他鸟类的试验结果预估 LD<sub>50</sub>；
- 最低剂量（剂量 1）=0.1414×预估 LD<sub>50</sub>、最高剂量（剂量 4）=7.071×预估 LD<sub>50</sub>；
- 当最高剂量>3330 时，最高剂量设定为 3330 并重新计算最低剂量（最低剂量=最高剂量/50）；
- 公比为 3.679；
- 根据最低剂量和公比计算剂量 2 和剂量 3，剂量 2=剂量 1×公比，剂量 3=剂量 2×公比。

#### 6.2.2.2 给药和观察

根据 6.2.2.1 计算的剂量，按 5.4 的要求给药，每剂量 1 只鸟。

观察一段时间（通常为 3 d），记录鸟类死亡情况并按表 2 估算 LD<sub>50</sub>，继续观察至 14 d。若观察到延迟效应，应延长观察时间。若根据第 3 d 的情况判断仍可能出现鸟类死亡，应待所有存活鸟类恢复后再估算 LD<sub>50</sub>。若估算 LD<sub>50</sub> 前的观察期延长，后续阶段也应在估算 LD<sub>50</sub> 前相应延长观察期。

表 2 根据第 1 阶段结果估算 LD<sub>50</sub>

剂量 1	剂量 2	剂量 3	剂量 4	估算的 LD <sub>50</sub>
O <sup>a</sup>	O	O	O	(剂量 4×剂量 5 <sup>c</sup> ) <sup>1/2</sup>
O	O	O	X <sup>b</sup>	(剂量 3×剂量 4) <sup>1/2</sup>
O	O	X	O	(剂量 3×剂量 4) <sup>1/2</sup>
O	X	O	O	剂量 3
X	O	O	O	(剂量 2×剂量 3) <sup>1/2</sup>
O	O	X	X	(剂量 2×剂量 3) <sup>1/2</sup>
O	X	X	O	剂量 3
X	X	O	O	(剂量 2×剂量 3) <sup>1/2</sup>
O	X	O	X	(剂量 2×剂量 3) <sup>1/2</sup>
X	O	X	O	(剂量 2×剂量 3) <sup>1/2</sup>
X	O	O	X	剂量 2
O	X	X	X	(剂量 1×剂量 2) <sup>1/2</sup>
X	O	X	X	(剂量 1×剂量 2) <sup>1/2</sup>
X	X	O	X	剂量 2
X	X	X	O	(剂量 2×剂量 3) <sup>1/2</sup>
X	X	X	X	(剂量 0 <sup>d</sup> ×剂量 1) <sup>1/2</sup>

- a: “O” 代表鸟类存活;
- b: “X” 代表鸟类死亡;
- c: 仅用于估算 LD<sub>50</sub>, 剂量 5=剂量 4×公比;
- d: 仅用于估算 LD<sub>50</sub>, 剂量 0=剂量 1/公比。

### 6.2.3 第 2 阶段

#### 6.2.3.1 确定剂量

按以下要求确定第 2 阶段试验的试验剂量:

- 根据预实验结果和第 1 阶段试验结果估算 LD<sub>50</sub>;
- 最低剂量 (剂量 1) =0.3425×预估 LD<sub>50</sub>、最高剂量 (剂量 10) =2.919×预估 LD<sub>50</sub>;
- 当最高剂量>3330 时,最高剂量设定为 3330 并重新计算最低剂量(最低剂量=最高剂量/8.5);
- 公比= (最高剂量/最低剂量)<sup>1/9</sup>;
- 按式 1 计算 8 个中间剂量, i=2~9。

$$dose_i = ldose \times step^{i-1} \dots\dots\dots (1)$$

式中:

dose<sub>i</sub>——第 i 个剂量;

ldose——最低剂量;

step——公比。

#### 6.2.3.2 给药和观察

根据 6.2.3.1 计算的剂量, 按 5.4 的要求给药, 每剂量 1 只鸟。

观察一段时间 (通常为 3 d, 但若第 1 阶段延长观察时间应相应延长观察时间), 记录鸟类死亡情况、统计逆转数, 用限度试验、第 1 阶段和第 2 阶段的数据按多元概率比回归模型 (probit 模型) 估算 LD<sub>50</sub> 及剂量-效应曲线的斜率 (斜率), 继续观察至 14 d。若 14 d 后观察到延迟效应, 应延长观察时间。若根据第 3 d 的情况判断仍可能出现鸟类死亡, 应待所有存活鸟类恢复后再估算 LD<sub>50</sub>。若估算 LD<sub>50</sub> 前的观察期延长, 后续阶段也应在估算 LD<sub>50</sub> 前相应延长观察期。若逆转≥2, 进行第 3a 阶段试验, 否则进行第 3b 阶段试验。

当试验目的是为开展物种敏感性分布而获得 LD<sub>50</sub> 时, 观察至 14 d, 用限度试验、第 1 阶段和第 2 阶段的数据按多元概率比回归模型计算 LD<sub>50</sub>, 试验结束。

### 6.2.4 第 3a 阶段

#### 6.2.4.1 确定剂量

按以下要求确定第 3a 阶段试验的试验剂量:



——第 2 阶段试验估算出的斜率 $>15$  时，斜率设定为 15；斜率 $<1$  时，斜率设定为 1；不能计算斜率时，斜率设定为 5；

——低剂量 $=10^{(-1.036/\text{斜率})} \times \text{预估 LD}_{50}$ ，高剂量 $=10^{(1.036/\text{斜率})} \times \text{预估 LD}_{50}$ ；

——当高剂量 $>3330$  时，高剂量设定为 3330 并重新计算低剂量（低剂量 $=\text{高剂量}/10^{(2.072/\text{斜率})}$ ）。

#### 6.2.4.2 给药和观察

根据 6.2.4.1 计算的剂量，按 5.4 的要求给药，每剂量 5 只鸟。

观察至 14 d，用限度试验、第 1 阶段、第 2 阶段和第 3a 阶段的数据按多元概率比回归模型计算  $\text{LD}_{50}$  和斜率，试验结束。若不符合多元概率比回归模型，应在报告中说明，并以死亡率最接近 50% 的剂量（低于 50% 和高于 50% 各 1 个）的几何平均值作为  $\text{LD}_{50}$ ，也可用插值法或移动平均法估算  $\text{LD}_{50}$ 。

#### 6.2.5 第 3b 阶段

##### 6.2.5.1 确定剂量

按以下要求确定第 3b 阶段试验的试验剂量：

——最低剂量（剂量 1） $=0.6205 \times \text{预估 LD}_{50}$ 、最高剂量（剂量 5） $=1.6113 \times \text{预估 LD}_{50}$ ；

——当最高剂量 $>3330$  时，最高剂量设定为 3330 并重新计算最低剂量（最低剂量 $=\text{最高剂量}/2.6$ ）；

——公比 $=（\text{最高剂量}/\text{最低剂量}）^{1/4}$

——按式 1 计算 3 个中间剂量， $i=2\sim 4$ 。

##### 6.2.5.2 给药和观察

根据 6.2.5.1 计算的剂量，按 5.4 的要求给药，每剂量 2 只鸟。

观察一段时间（通常为 3 d，但若第 1、2 阶段延长观察时间应相应延长观察时间），记录鸟类死亡情况，用限度试验、第 1、2、3b 阶段的数据按多元概率比回归模型估算  $\text{LD}_{50}$  及斜率，继续观察至 14 d。若 14 d 后观察到延迟效应，应延长观察时间。若根据第 3 d 的情况判断仍可能出现鸟类死亡，应待所有存活鸟类恢复后再估算  $\text{LD}_{50}$ 。若估算  $\text{LD}_{50}$  前的观察期延长，后续阶段也应在估算  $\text{LD}_{50}$  前相应延长观察期。

若逆转 $\geq 2$  或部分死亡 $\geq 2$ ，不需进行第 4 阶段试验。观察至 14 d，用限度试验、第 1 阶段、第 2 阶段和第 3b 阶段的数据按多元概率比回归模型计算  $\text{LD}_{50}$  和斜率，试验结束。

#### 6.2.6 第 4 阶段

##### 6.2.6.1 确定剂量

按以下要求确定第 4 阶段试验的试验剂量：

——最低剂量（剂量 1） $=0.6205 \times \text{预估 LD}_{50}$ 、最高剂量（剂量 5） $=1.6113 \times \text{预估 LD}_{50}$ ；

——当最高剂量>3330时,最高剂量设定为3330并重新计算最低剂量(最低剂量=最高剂量/2.6);

——公比=(最高剂量/最低剂量)<sup>1/4</sup>

——按式1计算3个中间剂量,  $i=2\sim 4$ 。

#### 6.2.6.2 给药和观察

根据6.2.6.1计算的剂量,按5.4的要求给药,每剂量2只鸟。

观察至14 d,用限数试验、第1阶段、第2阶段、第3b阶段、第4阶段的数据按多元概率比回归模型计算LD<sub>50</sub>和斜率,试验结束。若在第4阶段结束后不能得出最大似然估计,应在报告中说明,并以死亡率最接近50%的剂量(低于50%和高于50%各1个)的几何平均值作为LD<sub>50</sub>,也可用插值法或移动平均法估算LD<sub>50</sub>。

#### 6.3 对照组

对照组应使用5只与处理组同批孵化的鸟,采用与处理组相同的载体(或胶囊)虚拟给药,并在与处理组相同的环境条件下观察。在虚拟给药前、给药后第3 d、第7 d、第14 d称重。虚拟给药应安排在处理组第一次给药当天。

出现以下情况时,对照组应再增加5只鸟:

——新试验阶段所用鸟类与试验最初所用鸟类不是同批孵化的,应以该批次鸟类设置对照组;

——不同试验阶段给药体积不同时,应以该阶段给药体积为对照组虚拟给药。该情况可能出现在最高剂量增加时,需要更大体积来得到合适的溶液或悬浮液;

——各阶段间隔时间延长或有明显区别时,应在序贯法试验中间阶段(如第2阶段或第3阶段)开始时为对照组虚拟给药。

### 7 数据处理

#### 7.1 原始数据

应以表格形式记录并报告每只鸟的试验数据,包括剂量、用鸟数量、中毒症状、死亡数和实施安乐死的数量、每只鸟的死亡时间、中毒症状出现和终止的时间、体重、食物消耗量、大体解剖结果。

#### 7.2 统计方法

应使用多元概率比回归模型计算LD<sub>50</sub>和斜率。若第4阶段试验结果不能得出最大似然估计,应在报告中说明,并以死亡率最接近50%的剂量(低于50%和高于50%各1个)的几何平均值作为LD<sub>50</sub>,也可用插值法或移动平均法估算LD<sub>50</sub>。

使用Fieller定理、似然比法或二项式法计算LD<sub>50</sub>的置信区间。

试验报告中应提供回归模型拟合度的指标描述。

当试验目的是为开展物种敏感性分布而获得 LD<sub>50</sub>，仅进行了至第 2 阶段试验时，也应使用多元概率比回归模型计算 LD<sub>50</sub>，但不应在报告中提供剂量-效应曲线的斜率和 LD<sub>50</sub> 的置信区间。

可使用序贯设计计算器（Sequential Design Calculator, SEDEC）设计试验剂量并计算试验结果。

## 8 质量控制

对照组鸟类死亡率不应>10%。

## 9 试验报告

试验报告至少应包括以下内容：

### a) 被试物：

- 通用名、化学名、化学文摘登录号（CAS 号）、结构式、纯度；
- 来源、批号、有效期、稳定性；
- 物理性状、水中溶解度及其他相关的理化性质。

### b) 试验方法和试验体系：

- 试验类型；
- 试验用鸟类的物种、品系、来源、日龄、体重及健康状况；
- 试验方法的详细描述。

### c) 试验过程：

- 试验浓度设计（处理组和重复的数量、是否单笼饲养）；
- 实验动物驯养时间和分配程序；
- 给药方法（是否采用胶囊、采用的载体、单位体重给药体积）；
- 实验动物饲养条件（鸟笼的规格和材料、温度、湿度、光照时间、光照强度）；
- 饲料和饮用水（适用性、标识、来源、组成、热量值、污染物测定结果）；
- 观察的频率、时间和方法（健康/死亡、体重、食物摄入量）；
- 统计方法。

### d) 试验结果：

- 死亡（死亡时间、中毒症状）；
- LD<sub>50</sub>、剂量-效应曲线的斜率、置信区间；
- 症状出现和终止的时间（记录时间应精确到分钟）；
- 大体解剖病理检查结果；
- 每只鸟类的体重数据；
- 饲料消耗量数据。

附录 A  
(规范性附录)

鸟类明显的疼痛和濒死状态的判定

A.1 明显的疼痛的判定

鸟类出现以下症状之一时，可认定鸟类出现明显的疼痛：

- 异常发声；
- 异常攻击性；
- 异常姿势；
- 对触摸的异常反应；
- 异常动作；
- 自残；
- 开放性伤口或皮肤溃疡；
- 呼吸困难；
- 角膜溃疡；
- 骨折；
- 不愿移动；
- 外观异常；
- 体重快速减轻、快速消瘦或严重脱水；
- 大量出血。

A.2 濒死状态的判定

鸟类出现以下症状之一时，可认定鸟类处于濒死状态：

- 长时间行走障碍使鸟类无法饮水进食或长期厌食；
- 严重体重减轻、极端消瘦或严重脱水；
- 大量失血；
- 证据表明出现不可逆器官衰竭；
- 长期对外部刺激缺乏自主反应；
- 持续出现呼吸困难；
- 长时间无法保持站立；
- 持续性抽搐；
- 自残；
- 长时间腹泻；

——体温显著持续下降。

附录 B  
(规范性附录)  
试验流程

B.1 限度试验流程

见图 B.1，图中仅显示了处理组。

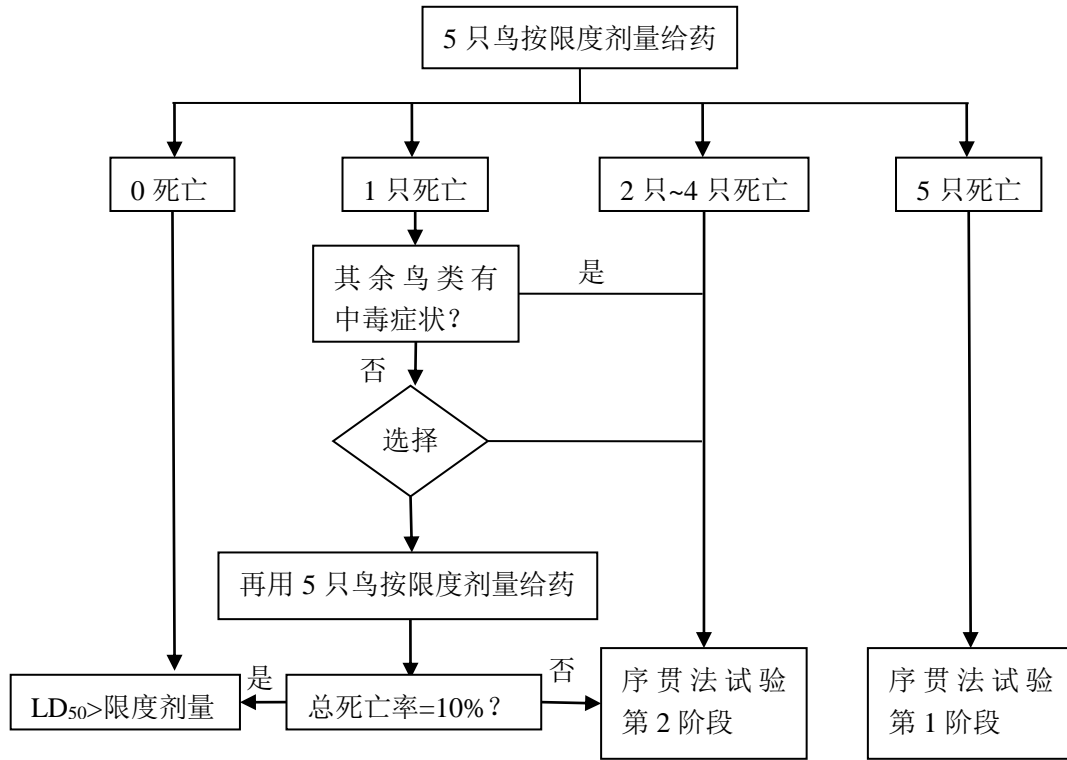


图 B.1 限度试验流程图

## B.2 序贯法试验流程

序贯法试验流程见图 B.2，图中仅显示了处理组。

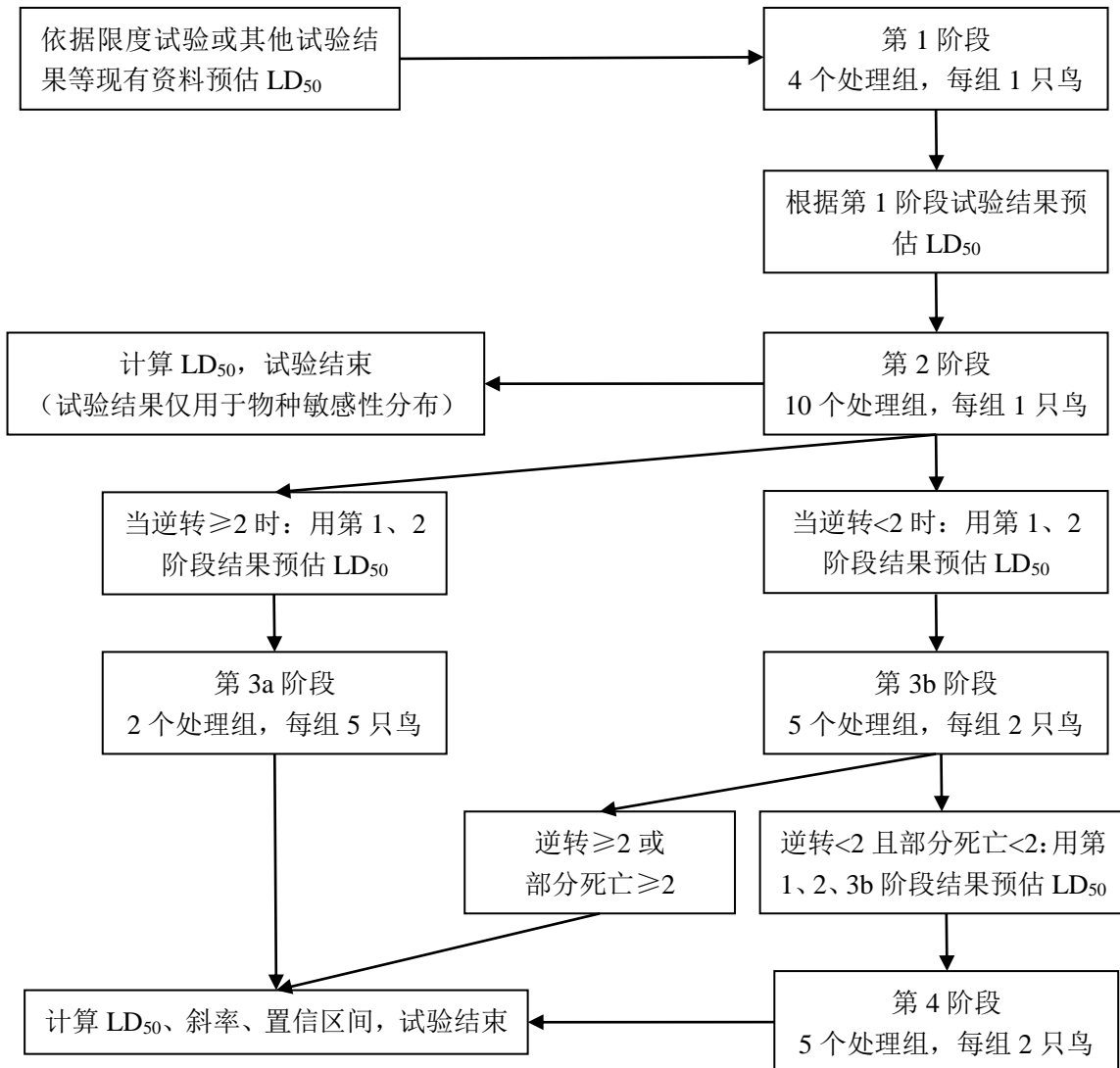


图 B.2 序贯法试验流程图

附录 C  
(规范性附录)

根据限度试验结果估算 LD<sub>50</sub>

C.1 根据限度试验结果估算 LD<sub>50</sub>

按式 C.1 估算 LD<sub>50</sub>。

$$LD_{50} = 10^{\left(\frac{probit-5}{5} + \lg(ld)\right)} \dots\dots\dots (C.1)$$

式中：

probit——概率单位，根据限度试验的鸟类死亡率按表 C.1 选择；

ld——限度剂量，单位为 mg/kg<sub>体重</sub>（毫克每千克体重）。

表 C.1 概率单位的选择

死亡率(%)	10	20	30	40	50	60	70	80	90
probit	3.72	4.16	4.48	4.75	5	5.25	5.52	5.84	6.28



附录 D  
(资料性附录)

序贯法试验时间线示例

D.1 序贯法试验时间线示例

序贯法试验时间线示例见图 D.1，图中仅显示了处理组。

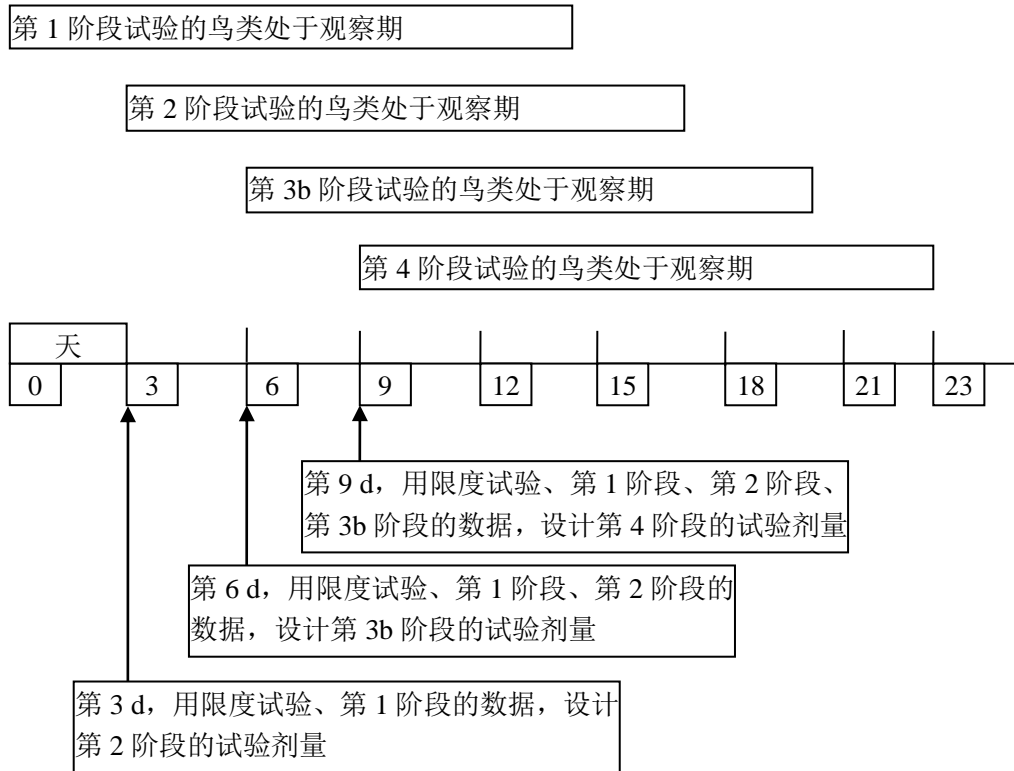


图 B.3 4 阶段序贯法试验时间线示例

附录 E  
(资料性附录)

部分死亡和逆转个数的确定

E.1 部分死亡和逆转个数的确定

本附录给出判断部分死亡和逆转试验结果的示例。其中，剂量从左至右依次增加，部分死亡用“\*”标记，逆转用表格中阴影部分表示。

示例 1:

第 1 阶段使用 4 只鸟，第 2 阶段使用 10 只鸟，共 14 只鸟、14 个剂量。第 2 阶段有 0 个部分死亡、2 个逆转，进行第 3a 阶段试验。

表 E.1 完成第 2 阶段进行第 3a 阶段试验的示例

死亡数量	0	0	0	0	0	1	0	1	1	0	1	1	1	1
鸟类数量	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
死亡率 (%)	0	0	0	0	0	100	0	100	100	0	100	100	100	100

示例 2:

第 1 阶段使用 4 只鸟，2 阶段使用 10 只鸟，共 14 只鸟；两个阶段最低和最高剂量相同，共 12 个剂量。第 2 阶段有 0 个部分死亡、1 个逆转，进行第 3b 阶段试验。

表 E.2 完成第 2 阶段进行第 3b 阶段试验的示例

死亡数量	0	0	0	0	0	1	0	1	1	1	1	1	2
鸟类数量	2	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	2
死亡率 (%)	0	0	0	0	0	100	0	100	100	100	100	100	100

示例 3:

第 1 阶段使用 4 只鸟，第 2 阶段使用 10 只鸟，第 3 阶段使用 10 只鸟，共 24 只鸟、19 个剂量。第 1 阶段、第 2 阶段、第 3b 阶段有 2 个部分死亡、3 个逆转，试验结束。

表 E.3 2 个部分死亡、3 个逆转的示例

死亡数量	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	1	1	2	0	1	1	1	1
鸟类数量	1	1	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1
死亡率 (%)	0	0	0	50	0	0	0	50	10	0	10	10	10	10	0	10	10	10	10
				*				*	0		0	0	0	0		0	0	0	0

示例 4:

第 1 阶段使用 4 只鸟，第 2 阶段使用 10 只鸟，第 3 阶段使用 10 只鸟，共 24 只鸟、19 个剂量。第 1 阶段、第 2 阶段、第 3b 阶段有 1 个部分死亡、2 个逆转，试验结束。

表 E.4 1 个部分死亡、3 个逆转的示例

死亡数量	0	0	0	0	0	0	0	1	1	0	2	1	1	2	0	1	1	1	1
鸟类数量	1	1	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1
死亡率 (%)	0	0	0	0	0	0	0	50*	100	0	100	100	100	100	0	100	100	100	100

示例 5:

第 1 阶段使用 4 只鸟，第 2 阶段使用 10 只鸟，第 3 阶段使用 10 只鸟，共 24 只鸟、19 个剂量。

第 1 阶段、第 2 阶段、第 3b 阶段有 1 个部分死亡、1 个逆转，进行第 4 阶段试验。

表 E.5 1 个部分死亡、1 个逆转的示例

死亡数量	0	0	0	0	0	1	1	2	1	1	2	1	1	2	0	1	1	1	1
鸟类数量	1	1	1	2	1	2	1	2	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1
死亡率 (%)	0	0	0	0	0	50*	100	100	100	100	100	100	100	100	0	100	100	100	100

## 参考文献

- [1] OECD (2016) . Guideline for The Testing of Chemicals No.223 Avian Acute Oral Toxicity Test.
  - [2] OECD (2000) .OECD Series on Testing and Assessment ,No. 19 Guidance Document On the Recognition, Assessment, and Use of Clinical Signs As Humane Endpoints for Experimental Animals Used In Safety Evaluation
  - [3] US EPA (2012) . Ecological Effects Test Guidelines OCSPP 850.2100: Avian Acute Oral Toxicity Test
-