



# 中华人民共和国出入境检验检疫行业标准

SN/T 3946—2014

---

## 化学品 鱼类急性毒性试验 阈值法

Chemicals—Acute fish toxicity testing—Threshold approach

2014-04-09 发布

2014-11-01 实施

---

中 华 人 民 共 和 国  
国家质量监督检验检疫总局 发 布

## 前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准技术内容与经济合作与发展组织(OECD)测试与评价系列 No.126《急性鱼类毒性试验阈值法简要指南》(Short Guidance on the Treshold Approach for Acute Fish Toxicity)(2010)一致。

本标准由国家认证认可监督管理委员会提出并归口。

本标准起草单位：中华人民共和国宁波出入境检验检疫局。

本标准主要起草人：陈小青、马中春、刘超群、谭曜、孙运、陈丹超、虞维娜、林振兴。

## 引 言

本标准 of 急性鱼毒性阈值法提供了一个简短的指导方法。

本标准的英文原文由欧盟委员会于 2006 年向 OECD 提出。在 2008 年和 2009 年国家协调员测试指导方针计划中,工作组对该指导文件的草案进行了多次讨论。直到 2010 年 3 月 23-25 日召开的会议上,该指导文件才被正式批准。化学物质委员会和化学品、农药、生物技术工作组的联合会议于 2010 年 5 月 5 日将该指导文件纳入体系并作为标准进行发布。

基于动物福利和有效利用资源考虑,在可能的情况下尽量避免不必要的动物使用非常重要。在水生毒理学领域,尤其适用于根据 OECD TG 203 进行的鱼类急性毒性试验。阈值法描述的是今后区域鱼毒性可最初使用一个单一的浓度试验(即限量试验),且使用比传统的完整急性鱼类毒性研究更少的试验用鱼。单个浓度的选择是基于阈值浓度(threshold Concentration, TC)的推导,而 TC 又从可靠的藻类和急性无脊椎动物(如水蚤)的毒性数据而来。如果某个组/物种的  $E/LC_{50}$  是可用的,而鱼又比该组/物种更敏感或更不敏感,此时,则应考虑在 TC 上进行鱼毒性试验。如果在使用 TC 的限量试验中未出现死亡,则在进一步的危险或风险评估中,用 TC 代替  $LC_{50}$ 。

阈值法提议在进行体内急性鱼毒性试验时,要进行良好操作。阈值法主要基于这样的观察:鱼并不总是最敏感的测试物种<sup>1)</sup>。本概念最初在制药领域得到描述<sup>2)</sup>,后来欧洲委员会联合研究中心考虑到 OECD TG 203<sup>3)</sup>中有必要加入限量试验,因此,将此概念进一步延伸到化学物质<sup>4)</sup>。此外,一些出版物确认阈值法在急性毒性试验中的确可以减少鱼的数量<sup>5)</sup>,因此,也可应用到化学品之外的其他物质。

如果短期暴露<sup>6)</sup>结果表明,鱼是最为敏感的试验生物,那么阈值法则可提供浓度-反应关系来推导精确的  $LC_{50}$ 。

---

1) 参考文献[1,2]。

2) 参考文献[2]。

3) 参考文献[3,4]。

4) 参考文献[5]。

5) 参考文献[6,7]。

6) 参考文献[7]。

# 化学品 鱼类急性毒性试验 阈值法

## 1 范围

本标准规定了鱼类急性毒性试验阈值法的术语和定义、方法、数据和报告。  
本标准适用于鱼类急性毒性试验阈值法。

## 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 21805 化学品 藻类生长抑制试验(OECD TG 201)

GB/T 21830 化学品 溞类急性活动抑制试验(OECD TG 202)

GB/T 27861 化学品 鱼类急性毒性试验(OECD TG 203)

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1

**急性毒性 acute toxicity**

生物体短时间(天)暴露于某种化学物质而产生的明显不良反应。在本试验中,急性毒性用半数致死浓度(LC<sub>50</sub>)来表示,即在特定时间内,导致 50%受试鱼死亡的物质浓度。如果对于藻类或溞类,则采用半数抑制浓度(EC<sub>50</sub>)来表示,即在特定时间内,导致 50%藻类或溞类出现生长或活动抑制的物质浓度。

### 3.2

**剂量 dose**

向生物体给予受试物染毒的量,本方法用 mg/L 表示。

### 3.3

**限量试验 limit test**

如有数据显示,预期受试物毒性不大时可进行限量试验。本试验中提及的限量试验浓度为100 mg/L。

## 4 方法

### 4.1 试验类型

当需要提供急性鱼类毒性数据时,建议采用阈值法。整个方法可能包括以下试验类型:

——GB/T 21805 化学品 藻类生长抑制试验(TG 201 新鲜水藻类和蓝藻,生长抑制试验);

——GB/T 21830 化学品 溞类急性活动抑制试验(TG 202 溞类急性活动抑制试验);

——GB/T 27861 化学品 鱼类急性毒性试验(OECD TG 203 鱼类急性毒性试验——限量试

## SN/T 3946—2014

验);

——GB/T 27861 化学品 鱼类急性毒性试验(OECD TG 203 鱼类急性毒性试验)。

## 4.2 试验步骤(见附录 A)

### 4.2.1 阈值浓度求导(步骤 1~3)

选定现有的和可靠的藻类或急性无脊椎动物(如水蚤)毒性数据的最低  $EC_{50}$  值为阈值浓度(TC)。如果没有现成数据,则应按 GB/T 21805 和 GB/T 21830 或任何其他标准方法的要求获得可靠数据。

### 4.2.2 在阈值浓度上的急性鱼类毒性试验评估(限量试验)(步骤 4)

在阈值浓度上按照限量试验方法(GB/T 27861)进行急性鱼类毒性试验。如果  $TC > 100 \text{ mg/L}$ ,则在限量试验中,该测试物质的浓度应该是  $100 \text{ mg/L}$ 。如果  $TC < 100 \text{ mg/L}$ ,且未见死亡,则表明在短期暴露条件下,鱼并不是最敏感的测试生物群,且此时可认为  $LC_{50} > TC$ 。如果观察到亚致死效应,则应进行记录。如果实验组中有一条或多条鱼死亡,则应终止该试验并进行完整试验(步骤 5)。在遵守 OECD 的识别、评估指导性文件以及在使用临床体征作为实验动物人道端点的安全评价<sup>7)</sup>中,应将剩下的鱼进行处死。

### 4.2.3 鱼类急性毒性完整试验(步骤 5)

如果用 TC 进行限量试验观察到了死亡,则应按 GB/T 27861 的要求进行完整试验。

## 5 数据和报告

### 5.1 数据

应给出每个观察项的数据并以表格形式汇总所有的试验数据,并选择合适的统计学方法进行数据处理。

### 5.2 试验报告

#### 5.2.1 受试物

包括:受试物的状态、应用方法、稀释水的来源和主要化学性质(pH 值、硬度、温度)、所用化学分析法的方法步骤及分析结果、所用辅助物质的浓度、试验浓度列表以及各浓度下受试物在溶液中的稳定性等。

#### 5.2.2 试验动物

包括:动物的品系、试验前适应环境的时间、各试验浓度所用动物的大小和数量、动物来源等。

#### 5.2.3 结果

包括:选择试验方法的原因、详细过程和试验结果、给出推荐的 TC、 $LC_{50}$  或  $EC_{50}$  及可信度[计算方法见参考文献<sup>8)</sup>]。如果使用了参照物,也应报告其结果。

---

7) 参考文献[8]。

8) 参考文献[9~13]。

#### 5.2.4 结果讨论与解释

应根据藻类和溞类的数据选择阈值浓度,并在此基础上进行鱼类急性毒性限量试验或完整试验的选择。

#### 5.2.5 结论

本标准是鱼类急性毒性试验的前期筛选试验,当鱼类急性毒性限量试验显示受试鱼有死亡时,应进行完整的鱼类急性毒性试验。

附录 A  
(规范性附录)  
试验步骤图

试验步骤图见图 A.1。

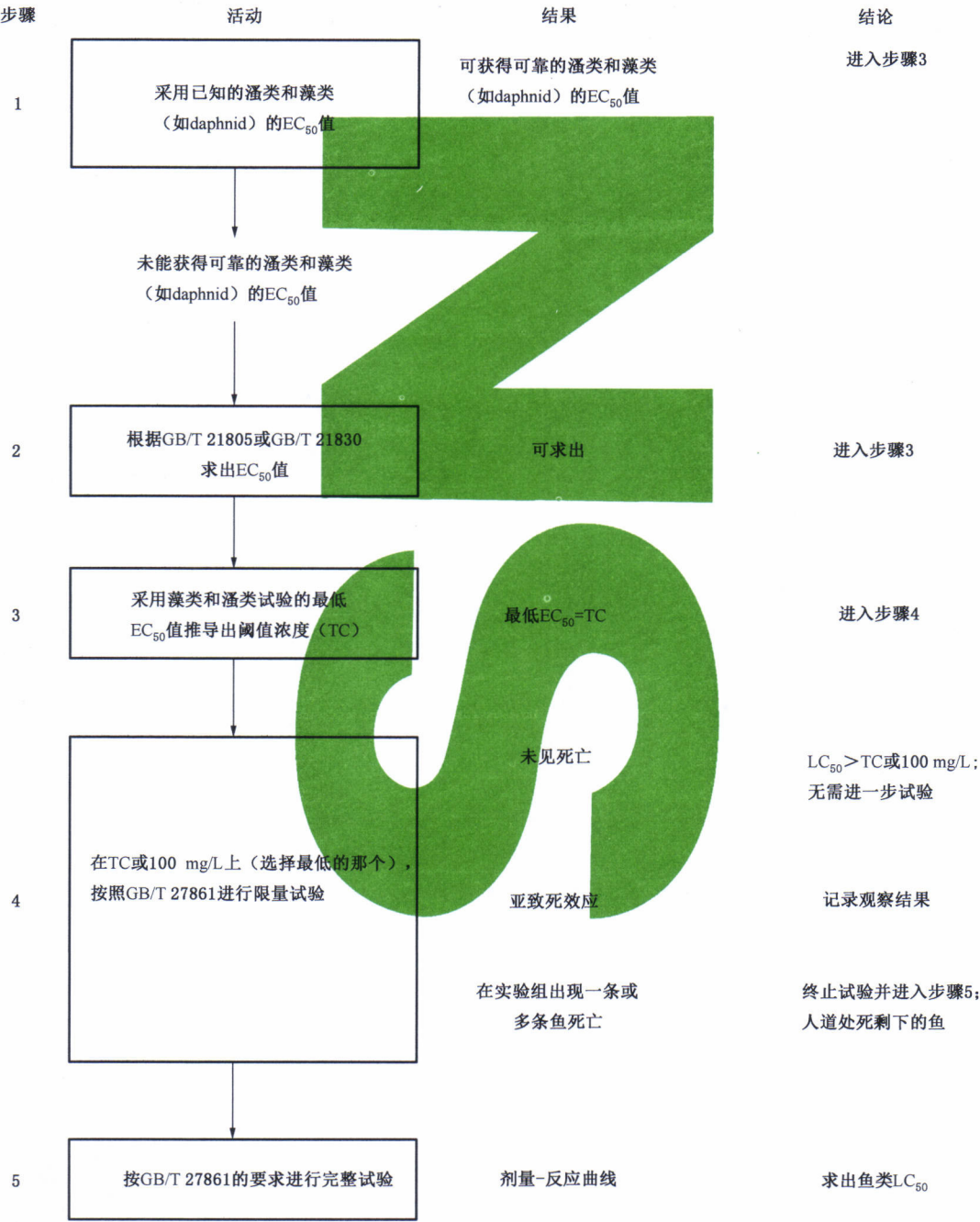


图 A.1 试验步骤图



## 参 考 文 献

- [1] Weyers, A., Sokull-Klüttgen, B., Baraibar-Fentanes, J., Vollmer, G., 2000. Acute toxicity data: a comprehensive comparison of results of fish, Daphnia and algae tests with new substances notified in the EU. *Environ. Toxicol. Chem.* 19, 1931-1933.
- [2] Hutchinson, T.H., Barrett, S., Buzby, M., Constable, D., Hartmann, A., Hayes, E., Huggett, D., Länge, R., Lillicrap, A.D., Straub, J.O., Thompson, R.S., 2003. A strategy to reduce the numbers of fish used in acute ecotoxicity testing of pharmaceuticals. *Environ. Toxicol. Chem.* 22, 3031-3036.
- [3] ECVAM (2006). Statement of the ECVAM Scientific Advisory Committee on the Scientific validity of the Upper Threshold Concentration (UTC) step-down approach for acute Aquatic Toxicity testing. ECVAM website: <http://ecvam.jrc.it/index.htm> (Validated Methods) and ATLA 35, 199-208, 2006.
- [4] Hoeger et al (2006). Reduction of animal use in acute aquatic toxicity testing: Further development of the threshold approach and its application to existing chemicals and plant protection products. Poster presentation at SETAC Europe 16th Annual Meeting 7-11 May 2006, abstract no MO1/AM/P05.
- [5] Jeram, S., Riego Sintes, J.M., Halder, M., Baraibar Fentanes, J., Sokull-Klüttgen, B., Hutchinson, T.H. (2005) A strategy to reduce the use of fish in acute ecotoxicity testing of new chemical substances notified in the European Union. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 42, 218-224.
- [6] Hoekzema, C.C., Murk A.J., van de Waart, B.J., van der Hoeven, J.C.M, de Roode D.F. (2006). Alternative approaches can greatly reduce the number of fish used for acute toxicity testing. *Environ. Toxicol. Chem.*, 25, 1322-1325.
- [7] Sewell (2008). Reduction in the numbers of fish used in aquatic acute toxicity testing. Poster presentation at SETAC Europe 18th Annual Meeting 25-29 May 2008, abstract no MO 253.
- [8] OECD, 2008. Guidance Document on the Recognition, Assessment and Use of Clinical Signs as Humane Endpoints. OECD Series on Testing and Assessment, No.19. Organisation for Economic Cooperation and Development, Paris, 39 pp.
- [9] Finney D.J.(1978). *Statistical Methods in Biological Assay*. Griffin, Weycombe, U.K.
- [10] Litchfield J. T. and Wilcoxon F.(1949). A simplified method of evaluating dose-effect experiments. *J. Pharmacol and Exper. Ther.* 96:99-113.
- [11] Sparague J. B.(1969). Measurement of pollutant toxicity to fish. I Bioassay methods for acute toxicity. *Water Res.* 3:793-821.
- [12] Sparague J. B.(1969). Measurement of pollutant toxicity to fish. II Utilising and applying Bioassay results. *Water Res.* 4: 3-32.
- [13] Stephan C.E.(1977). Wethods for calculating and  $LC_{50}$ . In *Aquatic Toxicology and Hazard Evaluation*(edited by Mayer F.I. and Hamelink J. L.). ASTM STP 634, pp 65-84, American Society for Testing and Materials.