|  |  |
| --- | --- |
| ICS | 点击此处添加ICS号 |
| CCS | |  | | --- | | D:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T.pngD:\000000部门项目\09标准化插件开发\程序源代码\StandardEditor_ShanDongKeXieYuan\团标首页面字母T后面的反斜杠.png SCSF |   点击此处添加CCS号 |

团体标准

T/SCSF XXXX—XXXX

水产养殖调水用品安全性评价技术规范

第1部分：化学类

Technical specification for safety assessment of aquacultural water conditioning supplies

Part 1: Chemical agents

XXXX - XX - XX发布

XXXX - XX - XX实施

中国水产学会  发布

1. 前言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是T/SCSF\*\*\*《水产养殖用调水用品生物安全性评价技术规范》的第1部分。T/SCSF\*\*\*已经发布了以下部分：

——第1部分：化学类

——第2部分：生物类

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。

本文件由中国水产学会归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

水产养殖调水用品安全性评价技术规范 第1部分：化学类

* 1. 范围

本文件规定了水产养殖调水用品（化学类）安全性评价的要求、评价内容与方法、评价程序、评价结果、报告和资料存档。

本文件适用于水产养殖调水用品（化学类）的安全性评价。

* 1. 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 16125 大型溞急性毒性实验方法

GB/T 22213 水产养殖术语

* 1. 术语和定义

GB/T 22213界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

水产养殖调水用品（化学类）water conditioning supplies for aquaculture（chemical）

调节养殖水质、底质理化指标，改善养殖生物生长环境的一种或几种无机或有机化学物质的混合物及其制剂。

急性毒性 acute toxicity

水产养殖动物一次或96 h内多次接触一定剂量的受试水产养殖调水用品（化学类）后一定时间内出现毒性反应的试验。

半数致死浓度half lethal concentration（LC50）

引起50%的受试水产养殖动物死亡的受试水产养殖调水用品（化学类）浓度，以LC50表示。

致死浓度 lethal concentration（LC）

引起一组水产养殖动物中全部（100%）死亡的受试水产养殖调水用品（化学类）最低浓度。

安全浓度 safe concentration

引起一组水产养殖动物中个体死亡同空白对照组比较无统计学差异的受试水产养殖调水用品（化学类）最高浓度。

耐受浓度 maximum tolerated concentration

在一定条件下，水产养殖动物能够持续存活于某种水产养殖调水用品（化学类）使用后的水体而不产生显著不良影响的最高浓度。

3.7

半数有效浓度 median effective concentration（EC50）

在24 h或48 h内50%暴露在实验液中大型溞活动受抑制（包括死亡）的浓度。

* 1. 安全性评价的基本要求
     1. 经专业机构检测，符合产品规定质量标准。

添加辅料的样品，应提供辅料的配方及其物理、化学性质等资料。

* 1. 评价内容与方法

安全性评价实验动物：以具有代表性的水产养殖动物为实验动物。

水产养殖调水用品（化学类）对水产养殖动物的安全性评价，具体见表1。

水产养殖调水用品（化学类）对养殖环境安全性的评价，具体见表1。

表1 评测项目与评价方法

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 评价内容 | 评价项目 | 评价方法 |
| 对养殖动物安全性的评价 | 水产养殖动物的急性毒性试验、耐受性实验。 | 急性毒性试验按照附录A执行，耐受性实验按照附录B执行。 |
| 养殖环境安全性的评价 | 大型溞的急性毒性试验 | 按照GB/T 16125的规定执行。按附录执行。 |

* 1. 评价程序

按水产养殖调水用品（化学类）的质量要求完成三批次样品制作，选择第三方或权威检测机构对产品检测，出具检测报告。

根据水产养殖调水用品（化学类）的特性，选择专业机构开展功能评价，制定安全性评价方案，选用相应的评价项目及方法，出具并提交产品安全性评价报告。

生产单位将拟投产水产养殖调水用品（化学类）的安全性评价报告提交至水产养殖调水用品协作机制秘书处备案。

* 1. 评价结果

7.1 对水产养殖动物的安全性评价结果

依据水产养殖调水用品（化学类）对水产养殖动物急性毒性试验计算其对水产养殖动物的半数致死浓度、致死浓度、安全浓度、耐受浓度。

7.2 对养殖环境的安全性评价结果

依据水产养殖调水用品（化学类）对大型溞的急性毒性试验计算其对大型溞的半数有效浓度。

* 1. 报告和资料存档

每个评价试验必须单独形成最终报告。每个试验最终报告中应包含试验概述和报告正文。

在安全性评价实施过程中，数据记录应真实、准确、完整、规范、清晰，并妥善保管。

数据的有效位数以所用仪器的精度为准，采用国家法定计量单位和国家推荐使用的单位。

根据不同的试验设计采用相应的统计分析方法进行数据分析。

评价报告至少应包括：

a）试验名称；

b）摘要；

c）试验目的；

d）受试物；

e）试验时间和地点；

f）试验材料和方法；

g）结果；

h）结论；

i）原始数据及相关的图表和照片；未纳入统计分析的数据或由于数据缺乏、数据丢失而无法评价的情况应具体说明；

j）参考文献；

k）试验机构和操作人员，包括试验机构的名称，试验操作人员、试验负责人和报告签发人的签名，报告签发时间，加盖签发机构的单位公章或专业实验室印章；外检数据应提供检测机构出具的检测报告。

应对试验报告每页进行编码，格式为“第 页，共 页”，并加盖骑缝章，确保报告的完整性。

安全性评价报告、原始记录、图表和照片、试验方案及其检测报告等原始资料应存档备查，保存时间一般不得少于5年。受试物样品在有效期应有留样。

附录A

（资料性附录）

水产养殖动物的急性毒性试验

1 方法原理

水产养殖动物类急性毒性试验用于评价受试物对水产养殖动物类可能产生的影响，以短期暴露效应表明受试物的危害性。

将水产养殖动物暴露于不同浓度的受试物溶液，以96 h为试验周期，在24 h、48 h、72 h和96 h时记录水产养殖动物的死亡率，分别确定50%试验水产养殖动物死亡时的受试物浓度，用LC50表示。

2 试验准备

2.1 仪器设备

仪器设备至少包括：

a）溶解氧测定仪；

b）水硬度计；

c）温度控制仪；

d）化学惰性材料制成的水族箱或水槽，规格一致，体积适宜；

e）pH计。

2.2 试验生物选择

选用一个或多个水产养殖动物，根据需要自行选择。建议根据易于饲养、方便试验、具有代表性等原则，并结合相关的经济、生物或生态因素等来确定水产养殖动物。试验用水产养殖动物应健康，无明显的畸形。

安全性评价实验动物：可在具备疾病与寄生虫控制条件的养殖场或实验室中，对水产养殖动物进行驯化和饲养，确保其健康状态良好且遗传清晰。此类水产养殖动物在全球多地均有分布，若使用其他符合上述标准的水产养殖动物，需对试验方法作相应调整，以提供合适的试验条件。

2.3 试验水产养殖动物的驯养

试验水产养殖动物用于试验之前，应在实验室至少暂养12 d。临试验前，应在符合下列条件的环境中至少驯养7 d：

——水：与试验用水相同；

——光照：每天12 h～16 h光照；

——温度：与试验水产养殖动物种相适宜

——溶解氧浓度：不小于80%空气饱和值；

——喂养：每周3次或每天投食，至试验开始前24 h为止。驯养开始48 h后，记录死亡率，并按下列标准处理：

——7 d内，死亡率大于10%，舍弃整批水产养殖动物；

——7 d内，死亡率在5%～10%之间，继续驯养7 d；

——7 d内，死亡率小于5%，可用于试验。

2.4 试验用水

使用高质量的自然水或标准稀释水，也可以使用饮用水，必要时应除氯。水的总硬度（以CaCO3计）为10 mg/L～250 mg/L，pH值为6.0～8.5。用于配制标准稀释水的试剂应为分析纯，去离子水或蒸馏水的电导率应小于或等于10 μS/cm。

2.5 试验溶液

通过稀释贮备液配制试验溶液。低水溶性物质的贮备液可以通过超声分散或其他适合的物理方法配制，必要时可使用对水产养殖动物毒性低的有机溶剂、乳化剂或分散剂来助溶。使用这些物质时应加设助溶剂对照试验，对照组助溶剂浓度应为试验组使用助溶剂的最高浓度，并且不得超过100 mg/L，不需调节试验溶液的pH值。如果加入受试物后试验溶液的pH值有明显变化，建议重新配制，调节受试物贮备液的pH值，使其接近加入受试物前稀释水的pH值。用于调节pH值的物质不应使贮备液的浓度明显改变，也不应与受试物发生化学反应或产生沉淀。最好使用HCl和NaOH来调节。

3 试验

3.1 暴露条件

暴露条件包括：

——持续时间：96 h；

——承载量：静态和半静态试验系统试验水产养殖动物的最大承载量为1.0 g/L，流水式试验系统承载量可高一些；

——光照：每天12 h～16 h；

——温度：与试验水产养殖动物种相适宜，保持恒定，变化范围± 2℃；

——溶解氧：不小于60%空气饱和值，若不会导致受试物明显损失时可进行曝气；

——喂食：不进行；

——干扰：避免可能改变水产养殖动物行为的干扰。

3.2 试验水产养殖动物数量

空白对照组与各试验浓度组应每组至少7尾水产养殖动物。

3.3 试验浓度设置

根据预试验结果来选择正式试验合适的浓度范围，至少应设置5个浓度组，并以几何级数排布，公比应不大于2.2。

3.4 试验对照组设置

每一系列设一个空白对照。如使用了助溶剂，应增设一个助溶剂对照。

3.5 观察

至少在24 h、48 h、72 h和96 h后检查试验水产养殖动物的状况。如果试验水产养殖动物没有任何肉眼可见的运动，如鳃的扇动，以及碰触尾部后无反应，即可判断该水产养殖动物已死亡。观察并记录死水产养殖动物数目后，将死水产养殖动物从容器中移去。最好在试验开始后3h及6h时观察各试验组水产养殖动物的状况。记录可见的试验水产养殖动物异常情况（如平衡能力丧失，游泳能力和呼吸功能减弱，颜色变浅等）。

每天至少测定一次pH值、溶解氧和温度。

3.6 限度试验

应用本标准时，为证明LC50 > 100 mg/L，可以进行浓度为100 mg/L（有效成分）的限度试验。限度试验组至少使用7尾水产养殖动物，与对照组使用的水产养殖动物数目相等。二项式理论表明：使用10尾水产养殖动物，没有1尾水产养殖动物死亡，那么LC50 > 100 mg/L的概率为99.9%；使用7尾、8尾或9尾水产养殖动物，没有1尾水产养殖动物死亡，那么LC50 > 100 mg/L的概率至少为99%。如果试验水产养殖动物发生死亡，则应按本标准的试验程序进行完整的试验。若观察到亚致死效应，应进行记录。

4 质量控制

有效的试验应符合以下条件：

——试验期间，尽可能维持恒定条件。如有必要，应使用半静态或流水式试验；

——试验结束时，对照组水产养殖动物死亡率不大于10%，如果每组水产养殖动物不到10尾则对照组死亡不超过1尾；

——试验期间，试验溶液的溶解氧浓度不小于60%空气饱和值；

——试验期间，受试物的实测浓度应不小于80%配制浓度。如果试验期间受试物实测浓度与配制浓度相差超过20%，则以受试物实测浓度平均值来确定试验结果。

5 数据与报告

5.1 数据处理

在对数-概率坐标纸上，绘制不同暴露时间下试验浓度对累计死亡率的曲线。用常用统计程序计算出某暴露时间的LC50值，并用标准方法计算95%的置信限。

如果试验数据不足以用标准方法计算LC50，可用不引起死亡的最高浓度和引起100%死亡的最低死亡浓度估算LC50的近似值，即这两个浓度的几何平均值。

5.2 试验报告

试验报告应包括以下内容：

a）受试物质：

——物质的物理状态及相关理化特性等；

——标识信息。

b）试验用水产养殖动物：

——学名、品系、大小、来源、驯化情况等。

c）试验条件：

——使用的试验方式，如静态、半静态或流水式，以及曝气、承载量等；

——水质特性（pH值、硬度、温度）；

——每24 h试验溶液中的溶解氧浓度、pH值、温度；

——对于半静态试验方式，试验液更新前后分别测定的pH值；

——贮备液及试验溶液配制方法；

——配制的试验浓度；

——试验溶液中受试物的实测浓度；

——每一试验浓度用水产养殖动物的数目。

d）结果：

——试验期间，无死亡发生的最高浓度；

——试验期间，导致100%死亡的最低浓度；

——每个推荐观察时间下，各个浓度的累计死亡率；

——每个推荐观察时间下的LC50值，及其95%的置信限；

——试验结束后的浓度-死亡率曲线图；

——确定LC50值的统计学方法；

——对照组的死亡率；

——试验期间，可能会影响试验结果的因素；

——水产养殖动物的异常反应。

附录B

（资料性附录）

调水用品（化学类）水产靶动物耐受性评价试验指南

1 适用性

1.1 本指南规定了水产用调水用品（化学类）（以下简称：调水用品（化学类））水产靶动物耐受性评价试验的基本原则、试验方案、试验方法和试验报告等要求。

1.2 本指南适用于为新调水用品（化学类）申报以及已经批准使用的调水用品（化学类）再评价而进行的水产靶动物耐受性评价试验。

1.3 调水用品（化学类）的靶动物耐受性评价试验可参照本指南的要求进行。

2 基本原则

2.1靶动物耐受性评价试验的目的是为调水用品（化学类）（以下简称为“受试物”）对靶动物的短期毒性提供有限评价；当受试物使用剂量超出推荐用量时，也可用来确立受试物的安全范围。

2.2应根据中国的水产养殖业生产实际开展靶动物耐受性评价试验，以保证评价结果的客观性。

2.3靶动物耐受性评价试验应对受试物所适用的靶动物分别进行评价，本指南4.3以及其他另有规定的特殊情况除外。

2.4靶动物耐受性评价试验应由具备一定专业知识和试验技能的专业人员在适宜的试验场所、使用适宜的设备设施、按照规范的操作程序进行，并且由试验机构指定的负责人负责。用于产品报批的，评价机构和人员的要求另行规定。

2.5试验动物应健康并且具有相似的遗传背景；饲养环境不应对试验结果造成影响；受试物和试验饲料不得受到污染。

2.6在符合靶动物耐受性评价试验相关要求的前提下，靶动物耐受性评价试验可与靶动物有效性评价试验合并进行。

2.7靶动物耐受性评价试验应充分考虑实验动物毒理学研究的结果。

3 试验方案

试验开始前，应根据受试物和靶动物的特点，对试验进行系统设计，形成试验方案。试验方案应包括试验目的、试验方法、仪器设备、详细的动物品种和类别、动物数量、饲养和饲喂条件、环境和水质条件等，并由试验负责人签字确认。具体要求如下：

3.1试验动物：品种或品系（通用名称后以斜体注明拉丁文双名）、年龄、体重、生理阶段和健康状况。必要时注明体长和性别；

3.2试验条件：明确动物来源、饲养条件、投喂方式；养殖设施的形状、规格、水体体积、光照条件、水质和水温；预饲期的条件要求；

3.3试验分组：试验组和对照组数量、每组重复数和每个重复的动物数、统计方法；

3.4试验受试物：描述受试物的加工方法、有效成分及其含量、受试物性状；注意根据受试物特点和使用方法，同一试验应保证所有原料来源和批次一致，各试验处理组试验因子以外的其他因素（如：料型、粒度、加工工艺等）应一致；

3.5受试物的测定：受试物的通用名称及有效成分、生产厂家、规格、生产批号、有效成分含量的检测方法及检测结果、检测机构的材料，在试验之前需有完整资料；

3.6观测项目和时间：检测和观察项目名称、实施和持续的确切时间；

3.7疾病治疗和预防措施：不应干扰受试物的作用并逐一记录；

3.8突发事件处理：动物个体和各试验组发生的所有非预期的突发事件，都应记录其发生的时间和范围。

4 试验方法

4.1受试物

4.1.1对于申请产品备案的受试物，应与拟上市（或拟进口）的产品完全一致。产品应由申报单位自行研制并在中试车间生产或生产线生产，同时提供产品质量标准和使用说明。

4.1.2试验机构应将受试物样品送具备CMA资质的的质检机构对其有效成分的含量进行实际测定。

4.2剂量与分组

4.2.1试验分组：靶动物耐受性评价试验至少要包括三个组，即对照组、有效剂量组、多倍剂量组。

4.2.2试验剂量

对照组通常不应含有受试物，但是，对于某些动物机体的必需营养素（如氨基酸、维生素、微量元素等），可以添加，但添加量应维持在最低必需水平。

一般情况下，有效剂量组应该选用最高限量。如果没有最高限量，应选用最高推荐剂量。如果没有最高推荐量，应根据受试物的自身特性，选择最低推荐剂量的2倍作为有效剂量。

多倍剂量组一般选用上述有效剂量的10倍。

如果受试物的耐受剂量低于有效剂量的10倍，耐受性评价试验应能通过尸检、组织病理学以及其他适宜的试验方法提出反映受试物毒性的特异性指标，并计算出受试物的安全系数。

4.2.3试验重复数：各试验组和对照组的试验重复数（或动物数）必须满足附录A的要求。

4.3试验期

靶动物耐受性评价试验需要的最短试验期取决于适用动物的种类和生长阶段，具体要求见附录A。

4.4观察与检测

4.4.1临床观察

试验期内应每天观察并记录试验动物临床表现、摄食情况、生长情况以及相关动物产品的产量和特性，也应详细观察和记录正常和不良反应。对试验中出现的不明原因的死亡应进行尸检，如果可能，最好进行组织病理学检查。

4.4.2血液学检测

试验开始和试验结束（必要时增加试验中期），各组试验动物空腹24小时后进行取样。每组随机抽检一定数量的动物，性别比例适当（适用时），分别采集血样进行血液常规生化指标及其他与受试物相关的各种生理参数的检测。每个处理的采血时间在2个小时内完成，并准确记录采血时间。

血液常规生化指标主要指谷氨酸氨基转移酶（ALT）、天门冬氨酸基转移酶（AST）、碱性磷酸酶（ALP）、总蛋白（TPRO）、白蛋白（ALB）、尿素氮（UN）、肌酐（CRE）、血糖（GLU）、总胆红素（TBILI）等指标，以及相应的免疫和抗氧化指标。

4.4.3组织病理学检查

（1）尸体解剖学检查：试验结束时，各组屠宰一定数量的试验动物（如有必要，则性别比例适当），进行系统尸体解剖学检查，为进一步的组织学检查提供依据。

（2）脏器系数测定：试验结束时，各组随机屠宰一定数量动物（如有必要，性别比例适当），剖检取内脏团、肝（胰）脏、脾等脏器称重，并计算各器官与体重的比值。

（3）组织病理学检查：试验结束时，对多倍剂量组及尸检异常动物的主要器官进行系统的组织病理学检查，必须详细检查的器官和组织包括：肝（胰）脏和肠道组织，同时根据受试物的特点，对其主要代谢靶器官进行组织病理学检查。

4.4.4其他特异性观测指标

根据受试物的作用特点和用途，增加相应的特异性观测指标和敏感性功能指标。

4.5数据记录

4.5.1在试验实施过程中，试验方案所涉及的内容均应逐一记录。数据记录应真实、准确、完整、规范、清晰，并妥善保管。

4.5.2数据的有效位数以所用仪器的精度为准，采用国家法定计量单位和国家推荐使用的单位。

4.6统计分析

4.6.1以重复为单位，根据不同的试验设计采用相应的统计分析方法进行数据分析。

4.6.2统计显著性差异水平至少应达到*P* < 0.05。



参考文献

[1] 农业部161号公告—2001 肥料登记资料要求

[2] 农业部1773号公告—2012 饲料原料目录

[3] 农业部2038号公告—2017 饲料原料目录

[4] 农业部2045号公告—2013 饲料添加剂目录

[5] 农业部2133号公告—2014 饲料原料目录

[6] 农业部2134号公告—2014 饲料添加剂目录

[7] 农业部2249号公告—2015 饲料原料目录

[8] 农业部2634号公告—2017 饲料原料目录

[9] 农业农村部21号公告—2018 饲料添加剂目录

[10] 农业农村部22号公告—2018 饲料原料目录

[11] 农业农村部53号公告—2018 饲料添加剂目录

[12] 农业农村部356号公告—2020 饲料原料目录

[13] 农业农村部356号公告—2020 饲料添加剂目录

[14] 农业农村部1231号公告—2009 饲料添加剂目录

[15] 农业部2011 饲料和饲料添加剂畜禽靶动物耐受性评价试验指南（试行）

