



中华人民共和国国家标准

GB 15193.3—2014

食品安全国家标准 急性经口毒性试验

2014-12-24 发布

2015-05-01 实施

中华人民共和国
国家卫生和计划生育委员会 发布

前 言

本标准代替 GB 15193.3—2003《急性毒性试验》。

本标准与 GB 15193.3—2003 相比,主要变化如下:

- 标准名称修改为“食品安全国家标准 急性经口毒性试验”;
- 修改了范围;
- 增加了试验报告和试验的解释;
- 修改了实验动物和试验方法;
- 删除了最大耐受剂量法,增加了限量法和上-下法;
- 修改了附录。

食品安全国家标准

急性经口毒性试验

1 范围

本标准规定了急性经口毒性试验的基本试验方法和技术要求。
本标准适用于评价受试物的急性经口毒性作用。

2 术语和定义

2.1 急性经口毒性

一次或在 24 h 内多次经口给予实验动物受试物后,动物在短期内出现的毒性效应。

2.2 半数致死量(LD₅₀)

经口一次或 24 h 内多次给予受试物后,能够引起动物死亡率为 50%的受试物剂量,该剂量为经过统计得出的计算值。其单位是每千克体重所摄入受试物质的毫克数或克数,即 mg/kg 体重或 g/kg 体重。

3 试验目的和原理

急性经口毒性试验是检测和评价受试物毒性作用最基本的一项试验,即经口一次性或 24 h 内多次给予受试物后,在短期内观察动物所产生的毒性反应,包括中毒体征和死亡,通常用 LD₅₀来表示。

该试验可提供在短期内经口接触受试物所产生的健康危害信息;作为急性毒性分级的依据;为进一步毒性试验提供剂量选择和观察指标的依据;初步估测毒作用的靶器官和可能的毒作用机制。

4 试验方法

4.1 受试物

4.1.1 受试物的配制

应将受试物溶解或悬浮于合适的溶媒中,首选溶媒为水,不溶于水的受试物可使用植物油(如橄榄油、玉米油等),不溶于水或油的受试物亦可使用羧甲基纤维素、淀粉等配成混悬液或糊状物等。受试物应新鲜配制,有资料表明其溶液或混悬液储存稳定者除外。

4.1.2 受试物的给予

4.1.2.1 途径

经口灌胃。

4.1.2.2 试验前禁食

试验前动物需禁食,一般大鼠需整夜禁食(一般禁食 16 h 左右),小鼠需禁食 4 h~6 h,自由饮水。

给予受试物后大鼠需继续禁食 3 h~4 h,小鼠需继续禁食 1 h~2 h。若采用分批多次给予受试物,可根据染毒间隔时间的长短给动物一定量的饲料。

4.1.2.3 灌胃体积

各受试物组的灌胃体积应相同,大鼠为 10 mL/kg 体重,小鼠为 20 mL/kg 体重。如果溶媒为水,大鼠最大灌胃体积可达 20 mL/kg 体重,小鼠可达 40 mL/kg 体重。

4.1.2.4 方式

一般一次性给予受试物。也可一日内多次给予(每次间隔 4 h~6 h,24 h 内不超过 3 次,尽可能达到最大剂量,合并作为一次剂量计算)。

4.1.2.5 观察期限

一般观察 14 d,必要时延长到 28 d,特殊应急情况下至少观察 7 d。

4.2 实验动物

4.2.1 动物选择

实验动物的选择应符合国家标准和有关规定(GB 14923、GB 14922.1、GB 14922.2)。选择两种性别健康成年大鼠(180 g~220 g)和(或)小鼠(18 g~22 g),或选用其他实验动物。雌性动物应是未交配过、未妊娠的。同性别实验动物个体间体重相差不超过平均体重的±20%。

4.2.2 动物准备

试验前实验动物在试验环境中至少应进行 3 d~5 d 环境适应和检疫观察。

4.2.3 动物饲养

实验动物饲养条件、饮用水、饲料应符合国家标准和有关规定(GB 14925、GB 5749、GB 14924.1、GB 14924.2、GB 14924.3)。每个受试物组动物按性别分笼饲养。每笼动物数以不影响动物自由活动和观察动物的体征为宜。对某些受试物常引起的特殊生物学特性及毒性反应(如易激动、互斗相残等)可作单笼饲养。试验期间实验动物喂饲基础饲料,自由饮水。

4.3 几种常用的急性毒性试验设计方法

4.3.1 霍恩氏(Horn)法

4.3.1.1 预试验

根据受试物的性质和已知资料,选用下述方法:一般多采用 100 mg/kg 体重,1 000 mg/kg 体重和 10 000 mg/kg 体重的剂量,各以 2 只~3 只动物预试。根据 24 h 内死亡情况,估计 LD₅₀ 的可能范围,确定正式试验的剂量组。也可简单地直接采用一个剂量,如 215 mg/kg 体重,用 5 只动物预试。观察 2 h 内动物的中毒表现。如中毒体征严重,估计多数动物可能死亡,即可采用低于 215 mg/kg 体重的剂量系列进入正式试验;反之中毒体征较轻,则可采用高于此剂量的剂量系列。如有相应的文献资料时可不进行预试。

4.3.1.2 正式试验

4.3.1.2.1 动物数

一般每组 10 只动物,雌雄各半。

4.3.1.2.2 常用剂量系列

$$\left. \begin{array}{l} 1.00 \\ 2.15 \\ 4.64 \end{array} \right\} \times 10^t \quad t=0, \pm 1, \pm 2, \pm 3$$

$$\left. \begin{array}{l} 1.00 \\ 3.16 \end{array} \right\} \times 10^t \quad t=0, \pm 1, \pm 2, \pm 3$$

因为剂量间距较 $\left. \begin{array}{l} 1.00 \\ 3.16 \end{array} \right\} \times 10^t \quad t=0, \pm 1, \pm 2, \pm 3$ 为小,所以结果较为精确。一般试验时,可根据上述剂量系列设计 5 个组,即较原来的方法在最低剂量组以下或最高剂量组以上各增设一组,这样在查表时容易得出结果。

4.3.1.2.3 观察

观察期内记录动物死亡数、死亡时间及中毒表现等,根据每组死亡动物数和所采用的剂量系列,查表求得 LD_{50} (见附录 A)。

4.3.2 限量法(limit test)

4.3.2.1 适用范围

该方法适用于有关资料显示毒性极小的或未显示毒性的受试物,给予动物一定剂量的受试物,仍不出现死亡。

4.3.2.2 动物数

一般选 20 只动物,雌雄各半。

4.3.2.3 剂量

一般选用剂量至少应为 10.0 g/kg 体重,如剂量达不到 10.0 g/kg 体重,则给予动物最大剂量(最大使用浓度和最大灌胃体积)。

4.3.2.4 观察

给予受试物后,观察期内无动物死亡,则认为受试物对某种动物的经口急性毒性耐受剂量大于某一数值,其 LD_{50} 大于该数值。如果动物出现死亡应选择其他方法。

4.3.3 上-下法(up-down procedure, UDP)

4.3.3.1 适用范围

该方法主要适用于纯度较高、毒性较大、摄入量小且在给予受试物后动物 1 d~2 d 内死亡的受试物,对预期给予受试物后动物在 5 d 及以后死亡的受试物不适用。可按照试验者选择的剂量序列或在专用软件包指导下进行试验,并对试验结果进行统计。

4.3.3.2 上-下法限量试验

以 2 000 mg/kg 体重剂量先给 1 只动物受试物,如果动物在 48 h 内死亡,应进行正式试验。如果动物在 48 h 内存活,另取 4 只动物以相同的剂量给予受试物,如 5 只动物中有 3 只死亡,应进行正式试验;如 3 只及以上的动物存活,结束试验,则该受试物 $LD_{50} > 2 000$ mg/kg 体重。

如需要采用 5 000 mg/kg 体重剂量时,给 1 只动物受试物,如动物在 48 h 内死亡,应进行正式试验。如在 48 h 内动物存活,另取 2 只动物,仍以相同剂量给予受试物,如在 14 d 的观察期内动物全部存活,结束试验,则该受试物 $LD_{50} > 5\ 000$ mg/kg 体重;如果 14 d 的观察期内后 2 只动物中有 1 只或 2 只死亡,再追加 2 只动物,给予受试物后在 14 d 观察期内 5 只动物中 3 只及以上动物存活,结束试验,该受试物 $LD_{50} > 5\ 000$ mg/kg;如 5 只动物中 3 只及以上动物分别在 14 d 观察期内死亡,应进行正式试验。

4.3.3.3 正式试验

4.3.3.3.1 动物数

单一性别,实验动物数一般为 6 只~9 只。

4.3.3.3.2 剂量

选择起始剂量和剂量梯度系数时,如果没有受试物 LD_{50} 的估计值资料,默认的起始剂量为 175 mg/kg 体重;如果没有受试物的剂量-反应曲线斜率的资料,默认的剂量梯度系数为 3.2(是斜率为 2 时的梯度系数),所设定的剂量系列为 1.75 mg/kg 体重、5.5 mg/kg 体重、17.5 mg/kg 体重、55 mg/kg 体重、175 mg/kg 体重、555 mg/kg 体重、2 000 mg/kg 体重或 1.75 mg/kg 体重、5.5 mg/kg 体重、17.5 mg/kg 体重、55 mg/kg 体重、175 mg/kg 体重、555 mg/kg 体重、1 750 mg/kg 体重、5 000 mg/kg 体重。对于剂量-反应曲线斜率比较平缓或较陡的受试物,剂量梯度系数可加大或缩小,起始剂量可作适当调整。附录 B 列出了斜率为 1~8 的剂量梯度。

4.3.3.3.3 方法

试验开始时称量禁食后动物的体重,计算灌胃体积。经口灌胃,一次一只动物,每只动物的灌胃间隔时间为 48 h。第二只动物的剂量取决于第一只动物的毒性结果,如动物呈濒死状态或死亡,剂量就下调一级;如动物存活,剂量就上调一级。

4.3.3.3.4 终止试验的规定

是否继续给予受试物取决于固定的时间间隔期内所有动物的生存状态,首次达到以下任何一种情况时,即可终止试验:

- a) 在较高剂量给予受试物中连续有 3 只动物存活;
- b) 连续 6 只动物给予受试物后出现 5 个相反结果;
- c) 在第一次出现相反结果后,继续给予受试物至少 4 只动物,并且从第一次出现相反结果后计算每一个剂量的似然值,其给定的似然比超过临界值。

依照试验结束时的动物生存状态即可计算受试物的 LD_{50} 。附录 C 描述了正式试验 LD_{50} 估计值和可信限的计算方法及特殊情况的处理方法。

如果给予受试物后动物在试验的后期才死亡,而较该剂量还高的动物仍处于存活状态,应当暂时停止继续给予受试物,观察其他动物是否也出现延迟死亡。当所有已经给予受试物的动物其结局明确后再继续染毒。如果后面的动物也出现延迟死亡,表示所有染毒的剂量水平都超过了 LD_{50} ,应当选择更适当的、低于已经死亡的最低剂量的两个剂量级重新开始试验,并要延长观察期限。统计时延迟死亡的动物按死亡来计算。

4.3.4 寇氏(Korbor)法

4.3.4.1 预试验

除另有要求外,一般应在预试验中求得动物全死亡或 90%以上死亡的剂量和动物不死亡或 10%以

下死亡的剂量,分别作为正式试验的最高剂量与最低剂量。

4.3.4.2 动物数

除另有要求外,一般设 5 个~10 个剂量组,每组每种性别以 6 只~10 只动物为宜。

4.3.4.3 剂量

将由预试验得出的最高、最低剂量换算为常用对数,然后将最高、最低剂量的对数差,按所需要的组数,分为几个对数等距(或不等距)的剂量组。

4.3.4.4 观察

给予受试物后,观察期内记录动物死亡数、死亡时间及中毒表现等。

4.3.4.5 试验结果的计算与统计

4.3.4.5.1 列出试验数据及其计算表

包括各组剂量(mg/kg 体重,g/kg 体重)、剂量对数(X)、动物数(n)、动物死亡数(r)、动物死亡百分比(P ,以小数表示),以及统计公式中要求的其他计算数据项目。

4.3.4.5.2 LD_{50} 的计算公式

根据试验条件及试验结果,可分别选用下列三个公式中的一个,求出 $\lg LD_{50}$,再查其自然数,即为 LD_{50} (mg/kg 体重,g/kg 体重)。

按本试验设计得出的任何结果,均可用式(1)计算:

$$\lg LD_{50} = \sum \frac{1}{2} (X_i + X_{i+1}) \times (P_{i+1} - P_i) \dots\dots\dots (1)$$

式中:

X_i 与 X_{i+1} ——相邻两组的剂量对数;

P_{i+1} 与 P_i ——相邻两组动物死亡百分比。

按本试验设计且各组间剂量对数等距时,可用式(2)计算:

$$\lg LD_{50} = XK - \frac{d}{2} (P_i + P_{i+1}) \dots\dots\dots (2)$$

式中:

XK ——最高剂量对数;

其他同式(1)。

按本试验设计且各组间剂量对数等距且最高、最低剂量组动物死亡百分比分别为 100(全死)和 0(全不死时),则可用便于计算的式(3)计算。

$$\lg LD_{50} = XK - d(\sum P - 0.5) \dots\dots\dots (3)$$

式中:

$\sum P$ ——各组动物死亡百分比之和;

其他同式(2)。

4.3.4.5.3 标准误与 95%可信限

$\lg LD_{50}$ 的标准误(S)的计算见式(4):

$$S_{\lg LD_{50}} = d \sqrt{\frac{\sum P_i (1 - P_i)}{n}} \dots\dots\dots (4)$$

95%可信限(X)的计算见式(5):

$$X = \lg^{-1}(\lg LD_{50} \pm 1.96 \cdot S_{\lg LD_{50}}) \dots\dots\dots(5)$$

注:此法易于了解,计算简便,可信限不大,结果可靠,特别是在试验前对受试物的急性毒性程度了解不多时,尤为适用。

4.3.5 机率单位——对数图解法

4.3.5.1 预试验

以每组 2 只~3 只动物找出全死和全不死的剂量。

4.3.5.2 动物数

一般每组每种性别不少于 10 只,各组动物数不一定要求相等。

4.3.5.3 剂量及分组

一般在预试验得到的两个剂量组之间拟出等比的六个剂量组或更多剂量组。此法不要求剂量组间呈等比关系,但等比可使各点距离相等,有利于作图。

4.3.5.4 观察

给予受试物后,观察期内记录动物死亡数、死亡时间及中毒表现等。

4.3.5.5 作图计算

4.3.5.5.1 将各组按剂量及死亡百分率,在对数概率纸上作图。除死亡百分率为 0% 及 100% 外,也可将剂量化成对数,并将百分率查概率单位表(见附录 D)得其相应的概率单位作点于普通算术格纸上,0% 及 100% 死亡率在理论上不存在,为计算需要用式(6)和式(7)代替:

$$0\% = \frac{0.25 \times 100}{N}\% \dots\dots\dots(6)$$

$$100\% = \frac{(N - 0.25)}{N} \times 100\% \dots\dots\dots(7)$$

式中:

N——该组动物数,相当于 0% 及 100% 的作图用概率单位(见附录 E)。

4.3.5.5.2 划出直线,以透明尺目测,并照顾概率。

4.3.5.6 计算标准误

标准误计算见式(8):

$$SE = \frac{2S}{\sqrt{2N'}} \dots\dots\dots(8)$$

式中:

SE ——标准误;

2S ——LD₈₄ 与 LD₁₆ 之差,即 2S = LD₈₄ - LD₁₆ (或 ED₈₄ - ED₁₆);

N' ——概率单位 3.5~6.5 之间(反应百分率为 6.7%~93.7%)各组动物数之和。

注:相当于 LD₈₄ 及 LD₁₆ 的剂量均可从所作直线上找到。也可用普通方格纸作图,查表将剂量换算成对数值,将死亡率换算成概率单位,方格纸横坐标为剂量对数,纵坐标为概率单位,根据剂量对数及概率单位作点连成线,由概率单位 5 处作一水平线与直线相交,由相交点向横坐标作一垂直线,在横坐标上的相交点即为剂量对数值,求反对数 LD₅₀ 值。

4.3.6 急性联合毒性试验

4.3.6.1 原理

两种或两种以上的受试物同时存在时,可能发生拮抗、相加或协同三种不同的联合作用方式,可以根据一定的公式计算和判定标准来确定这三种不同的作用。

4.3.6.2 步骤

4.3.6.2.1 分别测定单个受试物的 LD_{50} ,方法同 4.3.1、4.3.2、4.3.3、4.3.4、4.3.5。

4.3.6.2.2 按各受试物的 LD_{50} 值的比例配制等毒性的混合受试物。

4.3.6.2.3 测定混合物的 LD_{50} ,用其他 LD_{50} 测定方法时,可以按各个受试物的 LD_{50} 值的二分之一之和作为中组,然后按等比级数向上、下推算几组,与单个受试物 LD_{50} 测定的设计相同,如估计是相加作用,可向上、下各推算两组;如可能为协同作用,则可向下多设几组;如可能为拮抗作用,则可向上多设几组。

4.3.6.3 计算

4.3.6.3.1 混合物中各个受试物是以等毒比例混合的,因此求出的 LD_{50} 乘以各受试物的比例,即可求得各受试物的剂量。

4.3.6.3.2 用式(9)计算混合物的预期 LD_{50} 值的比值,按比值判定作用的方式。

$$\frac{1}{\text{混合物的预期 } LD_{50} \text{ 值}} = \frac{a}{\text{受试物 A 的 } LD_{50} \text{ 值}} + \frac{b}{\text{受试物 B 的 } LD_{50} \text{ 值}} + \dots + \frac{n}{\text{受试物 N 的 } LD_{50} \text{ 值}} \dots\dots\dots (9)$$

式中:

$a, b \dots n$ ——A、B……N 各受试物在混合物中所占的质量比例, $a + b + \dots + n = 1$ 。

4.3.6.3.3 判定受试物联合作用方式的比值采用 Keplinger 的规定,即小于 0.57 为拮抗作用,0.57~1.75 为相加作用,大于 1.75 为协同作用。

4.4 观察指标

4.4.1 临床观察

观察包括皮肤、被毛、眼、黏膜以及呼吸系统、泌尿生殖系统、消化系统和神经系统等,特别要注意观察有无震颤、惊厥、流涎、腹泻、呆滞、嗜睡和昏迷等(见附录 F)。在试验开始和结束时称取并记录动物体重,并且在观察期每周至少称取动物体重 1 次。全面观察并记录动物变化发生的时间、程度和持续时间,评估可能的毒作用靶器官。如发现动物处于濒死或表现出严重的疼痛和持续的痛苦状态应处死动物。死亡时间记录应当尽可能的精确。

4.4.2 病理学检查

所有的动物包括试验期间死亡、人道处死和试验结束处死的动物都要进行大体解剖检查,记录每只动物大体病理学变化,出现大体解剖病理改变时应做病理组织学观察。

5 数据处理和结果评价

描述由中毒表现初步提示的毒作用特征,根据 LD_{50} 值确定受试物的急性毒性分级(见附录 G)。

6 报告

- 6.1 试验名称、试验单位名称和联系方式、报告编号。
- 6.2 试验委托单位名称和联系方式、样品受理日期。
- 6.3 试验开始和结束日期、试验项目负责人、试验单位技术负责人、签发日期。
- 6.4 试验摘要。
- 6.5 受试物：名称、批号、剂型、状态(包括感官、性状、包装完整性、标识)、数量、前处理方法、溶媒。
- 6.6 实验动物：物种、品系、级别、数量、体重、性别、来源(供应商名称、实验动物生产许可证号)、动物检疫、适应情况，饲养环境(温度、相对湿度、实验动物设施使用许可证号)，饲料来源(供应商、实验动物饲料生产许可证号)。
- 6.7 试验方法：试验分组、每组动物数、剂量选择依据、受试物给予途径及期限、观察指标、统计学方法。
- 6.8 试验结果：动物生长活动情况、体重、体重增长、每只动物的反应(包括动物的毒性体征、严重程度、持续时间、是否可逆的、死亡率列表、每只动物大体解剖、病理组织学所见、LD₅₀和95%可信限，给出结果的统计处理方法。
- 6.9 试验结论：受试物经口急性毒性的特点、可逆性、可能的靶器官、LD₅₀和95%可信限以及急性经口毒性分级。

7 试验的解释

急性经口毒性试验可提供在短时间内经口接触受试物所产生的健康危害信息，为进一步毒性试验的剂量选择提供依据，并初步估测毒作用的靶器官和可能的毒作用机制。但由于动物和人存在种属差异，故试验结果外推到人存在一定的局限性。

附录 A

霍恩氏(Horn)法 LD₅₀ 值计算(剂量递增法测定 LD₅₀ 计算用表)

A.1 表 A.1 用于每组 5 只动物,其剂量递增公比为 $\sqrt[3]{10}$,意即 $10 \times \sqrt[3]{10} = 21.5, 21.5 \times \sqrt[3]{10} = 46.4 \dots$,余此类推。此剂量系列排列如下:

$$\left. \begin{array}{l} 1.00 \\ 2.15 \\ 4.64 \end{array} \right\} \times 10^t \quad t = 0, \pm 1, \pm 2, \pm 3 \dots$$

表 A.1 霍恩氏(Horn)法 LD₅₀ 值计算(剂量递增公比为 $\sqrt[3]{10}$)

组 1 或 组 1	组 2 或 组 3	组 3 或 组 2	组 4 或 组 4	剂量 1=0.464 剂量 2=1.00 剂量 3=2.15 剂量 4=4.64 } × 10 ^t		剂量 1=1.00 剂量 2=2.15 剂量 3=4.64 剂量 4=10.0 } × 10 ^t		剂量 1=2.15 剂量 2=4.64 剂量 3=10.0 剂量 4=21.5 } × 10 ^t	
				LD ₅₀	可信限	LD ₅₀	可信限	LD ₅₀	可信限
0	0	3	5	2.00	1.37~2.91	4.30	2.95~6.26	9.26	6.36~13.5
0	0	4	5	1.71	1.26~2.33	3.69	2.71~5.01	7.94	5.84~10.8
0	0	5	5	1.47	~	3.16	~	6.81	~
0	1	2	5	2.00	1.23~3.24	4.30	2.65~6.98	9.26	5.70~15.0
0	1	3	5	1.71	1.05~2.78	3.69	2.27~5.99	7.94	4.89~12.9
0	1	4	5	1.47	0.951~2.27	3.16	2.05~4.88	6.81	4.41~10.5
0	1	5	5	1.26	0.926~1.71	2.71	2.00~3.69	5.84	4.30~7.94
0	2	2	5	1.71	1.01~2.91	3.69	2.17~6.28	7.94	4.67~13.5
0	2	3	5	1.47	0.862~2.50	3.16	1.86~5.38	6.81	4.00~13.5
0	2	4	5	1.26	0.775~2.05	2.71	1.69~4.41	5.84	3.60~9.50
0	2	5	5	1.08	0.741~1.57	2.33	1.60~3.99	5.01	3.44~7.30
0	3	3	5	1.26	0.740~2.14	2.71	1.59~4.62	5.84	3.43~9.95
0	3	4	5	1.03	0.665~1.75	2.33	1.43~3.78	5.01	3.08~8.14
1	0	3	5	1.96	1.22~3.14	4.22	2.63~6.76	9.09	5.66~14.6
1	0	4	5	1.62	1.07~2.43	3.48	2.31~5.24	7.50	4.98~11.3
1	0	5	5	1.33	1.05~1.70	2.87	2.26~3.65	6.19	4.87~7.87
1	1	2	5	1.96	1.06~3.60	4.22	2.29~7.75	9.09	4.94~16.7
1	1	3	5	1.62	0.866~3.01	3.48	1.87~6.49	7.50	4.02~16.7
1	1	4	5	1.33	0.737~2.41	2.87	1.59~5.20	6.19	3.42~11.2
1	1	5	5	1.10	0.661~1.83	2.37	1.42~3.95	5.11	3.07~8.51
1	2	2	5	1.62	0.818~3.19	3.48	1.76~6.37	7.50	3.80~14.8
1	2	3	5	1.33	0.658~2.70	2.87	1.42~5.82	6.19	3.05~12.5
1	2	4	5	1.10	0.550~2.20	2.37	1.19~4.74	5.11	2.55~10.2
1	3	3	5	1.10	0.523~2.32	2.37	1.13~4.99	5.11	2.43~10.8
2	0	3	5	1.90	1.00~3.58	4.08	2.16~7.71	8.80	4.66~16.6

表 A.1 (续)

组 1 组 1	组 2 或 组 3	组 3 组 2	组 4 组 4	剂量 1=0.464 剂量 2=1.00 剂量 3=2.15 剂量 4=4.64 } ×10 ^t		剂量 1=1.00 剂量 2=2.15 剂量 3=4.64 剂量 4=10.0 } ×10 ^t		剂量 1=2.15 剂量 2=4.64 剂量 3=10.0 剂量 4=21.5 } ×10 ^t	
				LD ₅₀	可信限	LD ₅₀	可信限	LD ₅₀	可信限
2	0	4	5	1.47	0.806~2.67	3.16	1.74~5.76	6.81	3.74~12.4
2	0	5	5	1.14	0.674~1.92	2.45	1.45~4.13	5.28	3.13~8.89
2	1	2	5	1.90	0.839~4.29	4.08	1.81~9.23	8.80	3.89~19.9
2	1	3	5	1.47	0.616~3.50	3.16	1.33~7.53	6.81	2.86~16.2
2	1	4	5	1.14	0.466~2.77	2.45	1.00~5.98	5.28	2.16~12.9
2	2	2	5	1.47	0.573~3.76	3.16	1.24~8.10	6.81	2.66~17.4
2	2	3	5	1.14	0.406~3.18	2.45	0.875~6.85	6.28	1.89~14.8
0	0	4	4	1.96	1.18~3.26	4.22	2.53~7.02	9.09	5.46~15.1
0	0	5	4	1.62	1.27~2.05	3.48	2.74~4.42	7.50	5.90~9.53
0	1	3	4	1.96	0.978~3.92	4.22	2.11~8.44	9.09	4.54~18.2
0	1	4	4	1.62	0.893~2.92	3.48	1.92~6.30	7.50	4.14~13.6
0	1	5	4	1.33	0.885~2.01	2.87	1.91~4.33	6.19	4.11~9.33
0	2	2	4	1.96	0.930~4.12	4.22	2.00~8.88	9.09	4.31~19.1
0	2	3	4	1.62	0.797~3.28	3.48	1.72~7.06	7.50	3.70~15.2
0	2	4	4	1.33	0.715~2.49	2.87	1.54~5.36	6.19	3.32~11.5
0	2	5	4	1.10	0.686~1.77	2.37	1.48~3.80	5.11	3.19~8.19
0	3	3	4	1.33	0.676~2.63	2.87	1.46~5.67	6.19	3.14~12.2
0	3	4	4	1.10	0.599~2.02	2.37	1.29~4.36	5.11	2.78~9.39
1	0	4	4	1.90	0.969~3.71	4.08	2.09~7.99	8.80	4.50~17.2
1	0	5	4	1.47	1.02~2.11	3.16	2.20~4.54	6.81	4.74~9.78
1	1	3	4	1.90	0.757~4.75	4.08	1.63~10.2	8.80	3.51~22.0
1	1	4	4	1.47	0.654~3.30	3.16	1.41~7.10	6.81	3.03~15.3
1	1	5	4	1.14	0.581~2.22	2.45	1.25~4.79	5.28	2.70~10.3
1	2	2	4	1.90	0.706~5.09	4.08	1.52~11.0	8.80	3.28~23.6
1	2	3	4	1.47	0.564~3.82	3.16	1.21~8.24	6.81	2.62~17.7
1	2	4	4	1.14	0.454~2.85	2.45	0.977~6.13	5.28	2.11~13.2
1	3	3	4	1.14	0.423~3.05	2.45	0.912~6.57	5.28	1.97~14.2
2	0	4	4	1.78	0.662~4.78	3.83	1.43~10.3	8.25	3.07~22.2
2	0	5	4	1.21	0.583~2.52	2.61	1.26~5.42	5.62	2.71~11.7
2	1	3	4	1.78	0.455~6.95	3.83	0.980~15.0	8.25	2.11~32.3
2	1	4	4	1.21	0.327~4.48	2.61	0.705~9.66	5.62	1.52~20.8
2	2	2	4	1.78	0.410~7.72	3.83	0.883~16.6	8.25	1.90~35.8
2	2	3	4	1.21	0.266~5.52	2.61	0.573~11.9	5.62	1.23~25.6
0	0	5	3	1.90	1.12~3.20	4.08	2.42~6.89	8.80	5.22~14.8
0	1	4	3	1.90	0.777~4.63	4.08	1.67~9.97	8.80	3.60~21.5

表 A.1 (续)

组 1 或 组 1	组 2 或 组 3	组 3 或 组 2	组 4 或 组 4	剂量 1=0.464 剂量 2=1.00 剂量 3=2.15 剂量 4=4.64 } $\times 10^t$		剂量 1=1.00 剂量 2=2.15 剂量 3=4.64 剂量 4=10.0 } $\times 10^t$		剂量 1=2.15 剂量 2=4.64 剂量 3=10.0 剂量 4=21.5 } $\times 10^t$	
				LD ₅₀	可信限	LD ₅₀	可信限	LD ₅₀	可信限
0	1	5	3	1.47	0.806~2.67	3.16	1.74~5.76	6.81	3.74~12.4
0	2	3	3	1.90	0.678~5.30	4.08	1.46~11.4	8.80	3.15~24.6
0	2	4	3	1.47	0.616~3.50	3.16	1.33~7.53	6.81	2.86~16.2
0	2	5	3	1.14	0.602~2.15	2.45	1.30~4.62	5.28	2.79~9.96
0	3	3	3	1.47	0.573~3.76	3.16	1.24~8.10	6.81	2.66~17.4
0	3	4	3	1.14	0.503~2.57	2.45	1.08~5.54	5.28	2.33~11.9
1	0	5	3	1.78	0.856~3.69	3.83	1.85~7.96	8.25	3.98~17.1
1	1	4	3	1.78	0.481~6.58	3.83	1.04~14.2	8.25	2.23~30.5
1	1	5	3	1.21	0.451~3.25	2.61	0.972~7.01	5.62	2.09~15.1
1	2	3	3	1.78	0.390~8.11	3.83	0.840~17.5	8.25	1.81~37.6
1	2	4	3	1.21	0.310~4.74	2.61	0.668~10.2	5.62	1.44~22.0
1	3	3	3	1.21	0.279~5.26	2.61	0.602~11.3	5.62	1.30~24.4

A.2 表 A.2 用于每组 5 只动物,其剂量递增公比为 $\sqrt{10}$,意即 $10 \times \sqrt{10} = 31.6, 31.6 \times \sqrt{10} = 100 \dots$,余此类推。此剂量序列可排列如下:

$$\left. \begin{array}{l} 1.00 \\ 3.16 \end{array} \right\} \times 10^t \quad t=0, \pm 1, \pm 2, \pm 3 \dots$$

表 A.2 霍恩氏(Horn)法 LD₅₀值计算(剂量递增公比为 $\sqrt{10}$)

组 1 或 组 1	组 2 或 组 3	组 3 或 组 2	组 4 或 组 4	剂量 1=0.316 剂量 2=1.00 剂量 3=3.16 剂量 4=10.0 } $\times 10^t$		剂量 1=1.00 剂量 2=3.16 剂量 3=10.0 剂量 4=31.6 } $\times 10^t$	
				LD ₅₀	可信限	LD ₅₀	可信限
0	0	3	5	2.82	1.60~4.95	8.91	5.07~15.7
0	0	4	5	2.24	1.41~3.55	7.08	4.47~11.2
0	0	5	5	1.78	—	5.62	—
0	1	2	5	2.82	1.36~5.84	8.91	4.30~18.5
0	1	3	5	2.24	1.08~4.64	7.08	3.42~14.7
0	1	4	5	1.78	0.927~3.41	5.62	2.93~10.8
0	1	5	5	1.41	0.891~2.24	4.47	2.82~7.08
0	2	2	5	2.24	1.01~4.97	7.08	3.19~15.7
0	2	3	5	1.78	0.801~3.95	5.62	2.53~12.5
0	2	4	5	1.41	0.682~2.93	4.47	2.16~9.25
0	2	5	5	1.12	0.638~1.97	3.55	2.02~6.24

表 A.2 (续)

组 1 组 1	组 2 或 组 3	组 3 组 2	组 4 组 4	剂量 1=0.316 剂量 2=1.00 剂量 3=3.16 剂量 4=10.0 } × 10 ^t		剂量 1=1.00 剂量 2=3.16 剂量 3=10.0 剂量 4=31.6 } × 10 ^t	
				LD ₅₀	可信限	LD ₅₀	可信限
0	3	3	5	1.41	0.636~3.14	4.47	2.01~9.92
0	3	4	5	1.12	0.542~2.32	3.55	1.71~7.35
1	0	3	5	2.74	1.35~5.56	8.66	4.26~17.6
1	0	4	5	2.05	1.11~3.80	6.49	3.51~12.0
1	0	5	5	1.54	1.07~2.21	4.87	3.40~6.98
1	1	2	5	2.74	1.10~6.82	8.66	3.48~21.6
1	1	3	5	2.05	0.806~5.23	6.49	2.55~16.5
1	1	4	5	1.54	0.632~3.75	4.87	2.00~11.9
1	1	5	5	1.15	0.537~2.48	3.65	1.70~7.85
1	2	2	5	2.05	0.740~5.70	6.49	2.34~18.0
1	2	3	5	1.54	0.534~4.44	4.87	1.69~14.1
1	2	4	5	1.15	0.408~3.27	3.65	1.29~10.3
1	3	3	5	1.15	0.378~3.53	3.65	1.20~11.2
2	0	3	5	2.61	1.01~6.77	8.25	3.18~21.4
2	0	4	5	1.78	0.723~4.37	5.62	2.29~13.8
2	0	5	5	1.21	0.554~2.65	3.83	1.75~8.39
2	1	2	5	2.61	0.768~8.87	8.25	2.43~28.1
2	1	3	5	1.78	0.484~6.53	5.62	1.53~20.7
2	1	4	5	1.21	0.318~4.62	3.83	1.00~14.6
2	2	2	5	1.78	0.434~7.28	5.62	1.37~23.0
2	2	3	5	1.21	0.259~5.67	3.83	0.819~17.9
0	0	4	4	2.74	1.27~5.88	8.66	4.03~18.6
0	0	5	4	2.05	1.43~2.94	6.49	4.53~9.31
0	1	3	4	2.74	0.968~7.75	8.66	3.06~24.5
0	1	4	4	2.05	0.843~5.00	6.49	2.67~15.8
0	1	5	4	1.54	0.833~2.85	4.87	2.63~9.01
0	2	2	4	2.74	0.896~8.37	8.66	2.83~26.5
0	2	3	4	2.05	0.711~5.93	6.49	2.25~18.7
0	2	4	4	1.54	0.604~3.92	4.87	1.91~12.4
0	2	5	4	1.15	0.568~2.35	3.65	1.80~7.42
0	3	3	4	1.54	0.555~4.27	4.87	1.76~13.5
0	3	4	4	1.15	0.463~2.88	3.65	1.47~9.10
1	0	4	4	2.61	0.953~7.15	8.25	3.01~22.6
1	0	5	4	1.78	1.03~3.06	5.62	3.27~9.68
1	1	3	4	2.61	0.658~10.4	8.25	2.08~32.7

表 A.2 (续)

组 1 组 1	组 2 或 组 3	组 3 组 2	组 4 组 4	剂量 1=0.316 剂量 2=1.00 剂量 3=3.16 剂量 4=10.0 } × 10 ^t		剂量 1=1.00 剂量 2=3.16 剂量 3=10.0 剂量 4=31.6 } × 10 ^t	
				LD ₅₀	可信限	LD ₅₀	可信限
1	1	4	4	1.78	0.528~5.98	5.62	1.67~18.9
1	1	5	4	1.21	0.442~3.32	3.83	1.40~10.5
1	2	2	4	2.61	0.594~11.5	8.25	1.88~36.3
1	2	3	4	1.78	0.423~7.48	5.62	1.34~23.6
1	2	4	4	1.21	0.305~4.80	3.83	0.966~15.2
1	3	3	4	1.21	0.276~5.33	3.83	0.871~16.8
2	0	4	4	2.37	0.539~10.4	7.50	1.70~33.0
2	0	5	4	1.33	0.446~3.99	4.22	1.41~12.6
2	1	3	4	2.37	0.307~18.3	7.50	0.970~58.0
2	1	4	4	1.33	0.187~9.49	4.22	0.592~30.0
2	2	2	4	2.37	0.262~21.4	7.50	0.830~67.8
2	2	3	4	1.33	0.137~13.0	4.22	0.433~41.0
0	0	5	3	2.61	1.19~5.71	8.25	3.77~18.1
0	1	4	3	2.61	0.684~9.95	8.25	2.16~31.5
0	1	5	3	1.78	0.723~4.37	5.62	2.29~13.8
0	2	3	3	2.61	0.558~12.2	8.25	1.76~38.6
0	2	4	3	1.78	0.484~6.53	5.62	1.53~20.7
0	2	5	3	1.21	0.467~3.14	3.83	1.48~9.94
0	3	3	3	1.78	0.434~7.28	5.62	1.37~23.0
0	3	4	3	1.21	0.356~4.12	3.83	1.13~13.0
1	0	5	3	2.37	0.793~7.10	7.50	2.51~22.4
1	1	4	3	2.37	0.333~16.9	7.50	1.05~53.4
1	1	5	3	1.33	0.303~5.87	4.22	0.958~18.6
1	2	3	3	2.37	0.244~23.1	7.50	0.771~73.0
1	2	4	3	1.33	0.172~10.3	4.22	0.545~32.6
1	3	3	3	1.33	0.148~12.1	4.22	0.467~38.1

附录 B

上-下法(UDP)不同斜率的剂量梯度表

不同斜率的剂量梯度见表 B.1。

表 B.1 上-下法(UDP)不同斜率的剂量梯度表(确定每列斜率后选择剂量)

单位:mg/kg 体重

斜率	1	2	3	4	5	6	7	8
	0.175	0.175	0.175	0.175	0.175	0.175	0.175	0.175
	—	—	—	—	—	—	0.243	0.233
	—	—	—	—	0.28	0.26	—	—
	—	—	—	0.31	—	—	0.34	0.31
	—	—	0.38	—	—	0.38	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	0.41
	—	—	—	—	0.44	—	0.47	—
	—	0.55	—	0.55	—	0.55	—	0.55
	—	—	—	0.70	—	0.65	—	—
	—	—	—	—	—	—	0.74	—
	—	—	0.81	—	—	0.81	—	—
	—	—	—	0.98	—	—	0.91	0.98
	—	—	—	—	1.10	1.19	—	—
	—	—	—	—	—	—	1.26	1.31
	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75	1.75
	—	—	—	—	—	—	2.43	2.33
	—	—	—	—	2.8	2.6	—	—
	—	—	—	3.1	—	—	3.4	3.1
	—	—	3.8	—	—	3.8	—	—
	—	—	—	—	4.4	—	—	4.1
	—	—	—	—	—	—	4.7	—
	—	5.5	—	5.5	5.5	—	5.5	—
	—	—	—	—	7.0	—	6.5	—
	—	—	—	—	—	—	—	7.4
	—	—	8.1	—	—	8.1	—	—
	—	—	—	—	—	—	9.1	9.8
	—	—	—	—	11.0	11.9	—	—
	—	—	—	—	—	—	12.6	13.1
	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5	17.5

表 B.1 (续)

单位:mg/kg 体重

斜率	1	2	3	4	5	6	7	8
—	—	—	—	—	—	—	24.3	23.3
—	—	—	—	—	28	26	—	—
—	—	—	—	31	—	—	34	31
—	—	—	38	—	—	38	—	—
—	—	—	—	44	—	—	—	41
—	—	—	—	—	—	—	47	—
—	55	—	—	55	—	55	—	55
—	—	—	—	—	—	—	65	—
—	—	—	—	—	70	—	—	74
—	—	81	—	—	—	81	—	—
—	—	—	—	98	—	—	91	98
—	—	—	—	—	110	119	—	—
—	—	—	—	—	—	—	126	131
175	175	175	175	175	175	175	175	175
—	—	—	—	—	—	—	243	233
—	—	—	—	—	280	260	—	—
—	—	—	—	310	—	—	340	310
—	—	380	—	—	—	380	—	—
—	—	—	—	—	440	—	—	410
—	—	—	—	—	—	—	470	—
—	550	—	—	550	—	550	—	550
—	—	—	—	—	—	—	650	—
—	—	—	—	—	700	—	—	740
—	—	810	—	—	—	810	—	—
—	—	—	—	980	—	—	910	980
—	—	—	—	—	1 100	1 190	—	—
—	—	—	—	—	—	—	1 260	1 310
1 750	1 750	1 750	1 750	1 750	1 750	1 750	1 750	1 750
—	—	—	—	—	—	—	2 430	2 330
—	—	—	—	—	2 800	2 600	—	—
—	—	—	—	3 100	—	—	—	3 100
—	—	—	—	—	—	3 800	3 400	—
—	—	—	—	—	—	—	—	4 100
5 000	5 000	5 000	5 000	5 000	5 000	5 000	5 000	5 000

附 录 C

正式试验的 LD₅₀ 点估计值和可信限的计算

C.1 最大似然法

急性经口毒性试验应用软件包(AOT425StatPgm)是按照最大似然法编制的软件,可直接计算出 LD₅₀。在假定 sigma 条件下进行最大似然比计算。所有的死亡动物无论是给予受试物后立即、延迟和入道处死的动物,均作为最大似然法分析的基本数据。

Dixon 提出的似然函数可以用式(C.1)表示:

$$L = L_1 L_2 \cdots L_n \quad \dots\dots\dots (C.1)$$

式中:

L ——在给定 μ 和 sigma 条件下的使用 n 只动物试验结果的最大似然函数值;

L_i —— $L_i = 1 - F(Z_i)$, 表示第 i 只动物存活的概率, 或 $L_i = F(Z_i)$, 表示第 i 只动物死亡概率;

F ——为累计标准正态分布概率;

Z_i —— $[\lg(D_i) - \mu] / \text{sigma}$;

D_i ——第 i 只动物的剂量;

sigma 的估计值可设定为 0.5, 情况特殊时也可选用其他值。

LD₅₀ 的点估计值为似然函数 L 最大时的 μ 值;

C.2 特殊情况

有时不能进行统计学计算,或者所给结果明显的错误,此时的 LD₅₀ 估计值可按照以下 a)、b) 和 c) 中的描述进行计算。如果不属下列情况,一般采用最大似然法;

- a) 如果试验是在达到本方法终止试验规定的剂量较高的范围染毒,连续有 3 只动物存活,或者剂量达到高于上限的标准来终止试验的,那么 LD₅₀ 高于所使用的剂量;
- b) 如果较高剂量的动物全部死亡,而较低剂量的动物全部存活,那么 LD₅₀ 就介于全部死亡和全部存活的剂量之间。此时不能提供准确的 LD₅₀。如果有 sigma 仍可估计出 LD₅₀ 的最大可能值;
- c) 如果在某一剂量下出现死亡和存活,高于此剂量的动物全部死亡、低于此剂量的动物全部存活,LD₅₀ 就等于该剂量。如果进行与上述受试物的同类物的毒性试验,应当采用较小的剂量梯度系数。

C.3 可信限(CI)的计算

C.3.1 AOT425StatPgm 软件包可以完成可信限的计算,结果会对所进行的正式试验结果的可靠性、有效性进行评价。LD₅₀ 可信限范围大的表明在估算 LD₅₀ 存在较多的不确定性,所估算的 LD₅₀ 的可靠性和有效性较低;可信限范围较窄时,所得到的 LD₅₀ 所存在的不确定性较少,可靠性和有效性均比较高。其意义在于当重复正式试验时,所得到的 LD₅₀ 的估计值更接近于原来测定的估计值,并且两者都更接近于真实的 LD₅₀。

C.3.2 根据正式试验的试验结果,可以使用两种方法来估算真实的 LD₅₀ 可信限。

- a) 染毒 3 个不同剂量的试验结果,中间剂量的动物至少有 1 只动物死亡和 1 只动物存活,使用最大似然法的计算就可以得到包括真实 LD_{50} 和 95% 可信限。然而由于希望尽量减少使用的动物数,因此可信限值一般不太准确。随机终止试验的规定对此有一定的改善,但仍然会与真实的可信限存在一些差别。
- b) 如果在某一剂量和低于此剂量的动物全部存活,而高于此剂量的动物全部死亡,区间就是全部存活的剂量与全部死亡剂量,这只是一个大概范围,不能确定可信限。但当剂量-反应曲线较陡时,真实的 LD_{50} 可信限与此区间非常接近。

C.3.3 有些情况如反应斜率相对平坦,可信限可能报告到无限大,低至无限小和高至无限大,或两者之间,在反应相对平坦会出现这种情况。

C.3.4 如计算过程需要特殊程序来完成,可以使用 EPA、OECD 提供的免费软件专用程序来完成。

附录 D

反应率-概率单位表

反应率-概率单位表见表 D.1。

表 D.1 反应率-概率单位表

反应率	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9
0	—	2.67	2.95	3.12	3.25	3.36	3.45	3.52	3.60	3.66
10	3.72	3.77	3.83	3.87	3.92	3.96	4.01	4.05	4.09	4.12
20	4.16	4.19	4.23	4.26	4.29	4.33	4.36	4.39	4.42	4.45
30	4.48	4.50	4.53	4.56	4.59	4.62	4.64	4.67	4.70	4.72
40	4.75	4.77	4.80	4.82	4.85	4.87	4.90	4.93	4.95	4.98
50	5.00	5.03	5.05	5.08	5.10	5.13	5.15	5.18	5.20	5.23
60	5.25	5.28	5.31	5.33	5.36	5.39	5.40	5.44	5.47	5.50
70	5.52	5.55	5.58	5.61	5.64	5.67	5.71	5.74	5.77	5.81
80	5.84	5.88	5.92	5.95	5.99	6.04	6.08	6.13	6.18	6.23
90	6.28	6.34	6.41	6.48	6.56	6.65	6.75	6.88	7.05	7.33

附 录 E

相当于反应率 0% 及 100% 的概率单位

相当于反应率 0% 及 100% 的概率单位见表 E.1。

表 E.1 相当于反应率 0% 及 100% 的概率单位

每组动物数	反应率		每组动物数	反应率	
	0%	100%		0%	100%
2	3.85	6.15	12	2.97	7.03
3	3.62	6.38	13	2.93	7.07
4	3.47	6.53	14	2.90	7.10
5	3.36	6.64	15	2.87	7.13
6	3.27	6.73	16	2.85	7.15
7	3.20	6.80	17	2.82	7.18
8	3.13	6.87	18	2.80	7.20
9	3.09	6.91	19	2.78	7.22
10	3.04	6.96	20	2.76	7.24
11	3.00	7.00			

附录 F

实验动物中毒表现观察项目

实验动物中毒表现观察项目见表 F.1。

表 F.1 实验动物中毒表现观察项目

器官系统	观察及检查项目	中毒后一般表现
中枢神经系统及神经肌肉系统	动作行为	体位异常,叫声异常,不安或呆滞,反复抓挠口周,反复梳理,转圈,痉挛,麻痹,震颤,运动失调,甚至倒退行走或自残
	各种刺激的反应	易兴奋,知觉过敏或缺乏知觉
	大脑及脊髓反射	减弱或消失
	肌肉张力	强直,弛缓
植物神经系统	瞳孔大小	扩大或缩小
	分泌	流涎,流泪
呼吸系统	鼻孔	流液,鼻翼煽动
	呼吸性质和速率	深缓,过速
心血管系统	心区触诊	心动过缓,心律不齐,心跳过强或过弱
消化系统	腹形	气胀或收缩,腹泻或便秘
	粪便硬度和颜色	粪便不成形,黑色或灰色
泌尿生殖系统	阴道,乳腺	膨胀
	阴茎	脱垂
	会阴部	污秽,有分泌物
皮肤和被毛	颜色,张力	发红,皱褶,松弛,皮疹血
	完整性	竖毛
黏膜	黏膜	流粘液,充血,出血性紫绀,苍白
	口腔	溃疡
眼	眼睑	上睑下垂
	眼球	眼球突出或震颤,结膜充血,角膜混浊
	透明度	混浊
其他	直肠或皮肤温度	降低或升高
	一般情况	消瘦

附 录 G

急性毒性(LD₅₀)剂量分级

急性毒性(LD₅₀)剂量分级见表 G.1。

表 G.1 急性毒性(LD₅₀)剂量分级表

级别	大鼠口服 LD ₅₀ / (mg/kg 体重)	相当于人的致死量	
		mg/kg 体重	g/人
极毒	<1	稍尝	0.05
剧毒	1~50	500~4 000	0.5
中等毒	51~500	4 000~30 000	5
低毒	501~5 000	30 000~250 000	50
实际无毒	>5 000	250 000~500 000	500

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
食 安 全 国 家 标 准
急 性 经 口 毒 性 试 验
GB 15193.3—2014

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235
读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.75 字数 42 千字
2015年2月第一版 2015年2月第一次印刷

*

书号: 155066·1-49830 定价 27.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



GB 15193.3—2014