

Ocena skuteczności rodentycydów

Badania polowe preparatów przeciwko gryzoniom synantropijnym (*Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *R. rattus*)

Zakres

Niniejsza norma opisuje sposób przeprowadzania badań w warunkach polowych preparatów przeciwko gryzoniom synantropijnym (*Mus musculus*, *Rattus norvegicus*, *R. rattus*)

Zatwierdzenie normy i poprawki

Zatwierdzona po raz pierwszy 1982-09.
Uzgodniona z poprawionym tekstem standardowym z 1998.

Wstęp

Niniejsza norma jest uaktualnioną wersją Sekcji II i III we wcześniejszych Wytycznych dla Rozwoju i Oceny Biologicznej Rodentycydów (EPPO, 1975). Tworzą one zbiór wszystkich obecnie uznawanych przez EPPO metod, które są rekomendowane do stosowania przez Kraje Członkowskie. Jednym z głównych celów takiej ich promocji jest zapewnienie, aby praca wykonana w jednym kraju była uznawalna w pozostałych, co miałoby wpływ na wzrost efektywności badań przeprowadzanych z rodentycydami dzięki wyeliminowaniu niepotrzebnego wykonywania podobnych prac badawczych. Załącznik III zawiera wstępny spis tego typu prac, które zostały już opublikowane. Spis ten z całą pewnością ma pewne braki i odbiorcy są proszeni o ich sygnalizowanie.

Należy zaznaczyć, że opisane metody są przeznaczone jedynie do oceny efektywności rodentycydów, a nie do oceny zagrożeń jakie stwarzają one dla zdrowia publicznego, ani zwierząt domowych, czy dziko żyjących. Niemniej jednak, ocena takich zagrożeń jest ważna i może być przeprowadzona dostatecznie dobrze w połączeniu z badaniem skuteczności, szczególnie na etapie doświadczeń polowych. Nie ma tu też miejsca na ocenę innych istotnych właściwości rodentycydów, takich jak trwałość i humanitarność.

Analiza i interpretacja wyników badań nad rodentycydami nie jest z pewnością łatwa. W miarę możliwości eksperymentator powinien odwoływać się do metod statystycznych. Jednakże, ponieważ nie zawsze istnieje dostęp zarówno do takich metod jak i odpowiedniego sprzętu komputerowego, do obecne wytycznych załączono kilka przykładów opracowanych już metod analizy statystycznej (Załączniki I i II). Zarówno te metody, jak i same zaproponowane metody badań polowych, będą doskonalone wraz z postępem badań. Wszelkie sugestie są mile widziane i należy je przysyłać do EPPO, aby mogły one być uwzględnione w następnych edycjach obecnej normy.

1. *Mus musculus*

1.1 Rodzaje testów

Badania w warunkach polowych nad truciznami przeciwko *M. musculus* należy tak zaprojektować, aby po zabiegu można było określić procentową śmiertelność badanych zwierząt. W niektórych regionach, z uwagi na trudności w znalezieniu miejsc o jednolitym zasiedleniu przez szkodniki, użycie obiektów kontrolnych może okazać się niepraktyczne. W takim przypadku, w celu uzyskania wiarygodnych wyników, należy zwrócić większą uwagę na odpowiednią liczbę powtórzeń.

Populacje szkodników wykorzystywane w badaniach polowych nie powinny być wystawione na działanie jakiegokolwiek innej trucizny w poprzedzających 6 miesiącach, chyba że istniały po temu szczególne powody (np. doświadczenia służące zbadaniu wpływu rodentycydu na populacje odporne na inną truciznę).

1.2 Liczba i rodzaj stanowisk badawczych zasiedlonych przez gryzonie

Jeśli badana jest tylko jedna forma użytkowa rodentycydu, należy przeprowadzić doświadczenia w co najmniej 6 różnych stanowiskach. Liczba potrzebnych doświadczeń zależy od liczby badanych czynników, w tym od różnych populacji gryzoni, które muszą być użyte do badań. Z doświadczenia jednak wiadomo, że zazwyczaj wystarcza od 6 do 10.

Jeżeli warunki pozwalają na to, żeby przebadać jednocześnie dwie lub więcej formy użytkowe, należy doświadczenie zaplanować według układu dla analizy czynnikowej i rozmieścić losowo kombinacje w różnych wykorzystywanych do badań populacjach szkodników. Ułatwi to interpretację wyników przy użyciu analizy wariancji i innych podobnych metod statystycznych.

W miarę potrzeby i możliwości, należy objąć badaniem zarówno siedliska wiejskie, jak i miejskie. Na terenach miejskich rodzaje budynków opanowanych przez

myszy mogą być bardzo zróżnicowane. Mogą to być domy wolno stojące i wielopiętrowe wieżowce, sklepy, magazyny, restauracje, szpitale i szkoły. Populacje myszy w zabudowaniach gospodarstw wiejskich są na ogół mniej zmienne, ale występują wśród nich tak „trudne” środowiska jak głębokie kurniki, które chyba najlepiej nie uwzględniać w badaniach. W miarę potrzeby, można użyć populacji *M. musculus*, która żyje na terenach użytkowanych rolniczo.

1.3 Przeprowadzanie badań i metoda oceny powodzenia badania

1.3.1 Spis zwierząt metodą przynęcania

Śmiertelność w procentach oblicza się przez porównanie wskaźników wielkości populacji przed i po zastosowaniu trucizny.

Procedura

(a) Spis liczebności przed zabiegiem.

W Dniu 1 należy obejrzyć teren. Następnie, z pojemnika zawierającego odważoną ilość, wyłożyć około 20 g (nieodważonej) przynęty z dobrej jakości, grubo-mielonego zboża na specjalnych tacach (około 100 × 70 mm) w 1.5-2.0 m odstępach (i na różnych odpowiednich wysokościach ponad poziomem podłogi, na których biegają myszy, np. na półkach z produktami żywnościowymi w hurtowni). Drugiego dnia zabiera się i waży całą pozostałą przynętę (tzn. nie należy ważyć osobno przynęt z każdego punktu) i wyklada się kolejne odważone ilości świeżej przynęty. Czynności powtarza się do Dnia 5, w którym po zważeniu przynęty tace się usuwa. Następnie oblicza się ilość spożytej przynęty dla każdego okresu 24 godz. odejmując całkowitą ilość zebranej przynęty od ilości przynęty wyłożonej poprzedniego dnia. Należy dodać obliczenia z czterech dni, aby uzyskać wskaźnik liczby występujących myszy.

(b) Doświadczenia z ostrymi truciznami.

Przynętę wyklada się ósmego dnia. Należy użyć innego składnika podstawowego przynęty niż w badaniu dla określenia wielkości populacji (np. obłuszczone siemie, *Phalaris canariensis*, śrutowana pszenica) i, o ile to możliwe, wyłożyć je w innych miejscach niż przynętę z wcześniejszego badania dla określenia wielkości populacji. Jeśli zamierza się badać metodą stosowaną trucizny po próbnym przynęcaniu, należy ósmego dnia wyłożyć czystą przynętę w ilości około 20 g i, w miarę potrzeby, czynność powtórzyć przez kolejne dwa dni (9 i 10). Jedenastego dnia należy zebrać wszystkie przynęty próbne. Jeśli, w ocenie subiektywnej, okaże się, że ilość spożytej przynęty próbnej jest nadzwyczaj mała w porównaniu z wielkością populacji zwierząt ocenionej na podstawie innych obserwacji (odchody, tropy itp.), najprawdopodobniej lepiej będzie zrezygnować z przeprowadzenia doświadczenia (przyjmując, że istnieje problem z przyjmowaniem przynęty, który nie jest związany z badaną formą użytkową). Jeśli

„pobranie” przynęty wydaje się być zadowalające, należy wyłożyć trutkę zawartą w tym samym składniku bazowym (w odpowiednim stężeniu) i w tych samych punktach. Zatrutą przynętę usuwa się po upływie czasu, który uznamy za wystarczająco długi na to, by myszy zjadły odpowiednią ilość trucizny, i w sposób zgodny z wymogami bezpieczeństwa (zazwyczaj jest to okres 24-72 godz.). Należy odczekać 3 dni, aby myszy które spożyły subletalne dawki miały czas dojść do zdrowia, a następnie rozpocząć postępowanie liczenia populacji która przeżyła zabiegi (patrz dalej).

Jeśli nie zostało zastosowane przynęcanie wstępne, należy wyłożyć zatrutą przynętę ósmego dnia i następnie po około 72 godz. od zebrania zatrutej przynęty, rozpocząć program obliczania pozostałej przy życiu populacji.

(c) Zabiegi z użyciem trucizn pobieranych wielokrotnie (trucizn chronicznych).

Podobną procedurę stosuje się dla trucizn chronicznych. Ósmego dnia należy rozpocząć wykładanie przynęty z trucizną zawartą w innym składniku bazowym od użytego we wcześniejszym spisie liczebności (np. siemie, *P. canariensis*, lub rozdrobnioną pszenicę) umieszczając ją w różnych punktach. Wykładamy po 20 g (lub więcej) w niewielkich odstępach (1.5-2 m) i uzupełniamy według potrzeby, aby zawsze zachować nadwyżkę w każdym miejscu. Należy kontynuować wystawianie przynęty do chwili, gdy ilość spożywanego pokarmu drastycznie się zmniejszy lub badanie trwało dostatecznie długo (3-4 tygodnie). W praktyce korzystne może być zbadanie punktów wyłożenia przynęty w dniach od 9 do 12 i następnie co 2 lub 3 dni. W celu ustalenia aktywności myszy w końcowej fazie podawania trucizny chronicznej, dobrze jest posypać odpowiednie miejsca obojętnym chemicznie proszkiem „tropiącym” i okresowo wyglądać pozostawione na nim ślady myszy. Nie należy wysypywać tego rodzaju proszku w pobliżu punktów z przynętami. Przy końcu badania trzeba usunąć wszystkie przynęty, odczekać 72 godz., a następnie przystąpić do spisu liczebności.

(d) Spis liczebności zwierząt które przeżyły. Spis liczebności po zabiegu odbywa się zgodnie z tą samą procedurą co przy spisie liczebności przed zabiegiem (powyżej). Należy wyłożyć odważone (około 20 g) te same przynęty i, o ile to możliwe, w tych samych punktach przez tyle samo dni i, tak jak poprzednio, obliczyć całkowitą ilość pozostałą każdego dnia. Tak jak wcześniej, należy oszacować całkowite pobranie w przeciągu 4 dni w celu uzyskania wskaźnika liczby ocalałych myszy.

1.3.2 Spis liczebności zwierząt metodą odłowu.

Alternatywą dla przeprowadzania spisu za pomocą przynęt, jak to zostało opisane powyżej, jest oszacowanie wielkości populacji myszy poddanych badaniom stosując metodę odłowów przed i po podaniu trucizny – w przeciwnym razie należy zastosować się

do procedury opisanej powyżej. Przykładem odpowiedniej do tego pułapki jest tak zwana szwedzka pułapka siatkowa „Ugglan Special” „wielokrotnego-łapania”. Liczba i odstęp między pułapkami będą zależały od rodzaju siedliska, ale, generalnie, należy użyć co najmniej 10. Należy umieścić w nich śrutowany owies, który posłuży jako przynęta i pożywienie dla złapanych zwierząt.

Odławianie przed i po podaniu trucizny powinno być kontynuowane przez 2 lub, lepiej, 3 dni. Zwierzęta złapane w pierwszej fazie należy oznakować (w przypadku oceny antykoagulantów zaleca się raczej znakowanie futra niż obrączkowanie), a następnie wypuścić na wolność. Liczbę zwierząt odłowionych, oznakowanych i wypuszczonych w pierwszym spisie używa się jako wskaźnika wielkości populacji przed zabiegiem, a liczbę oznakowanych zwierząt w drugim spisie jako wskaźnik wielkości populacji po zabiegu.

1.3.3 Ocena statystyczna wyników badania.

Jeśli badaniu została poddana tylko jedna forma użytkowa, wskaźniki śmiertelności (w %) uzyskane w sześciu lub więcej zabiegach będą wystarczające do uzyskania informacji potrzebnych do oceny skuteczności jej działania. Śmiertelność oblicza się na podstawie wskaźników liczebności przed i po zabiegu uzyskanych metodami przynęt i odłowów (Sekcje 1.3.1 i 1.3.2) za pomocą następującego wzoru:

$$\text{śmiertelność procentowa} = \frac{100 \times (\text{wsk przed zabiegiem} - \text{wsk po zabiegu})}{\text{wsk przed zabiegiem}}$$

Jeśli badaniu została poddana więcej niż jedna forma użytkowa (i/lub metoda zastosowania itp.) i badanie zostało zaprojektowane według układu dla analizy czynnikowej, zaleca się użycie metod opisanych w Dodatku I.

2. *Rattus norvegicus* i *R. Rattus*

2.1 Rodzaje badań

Badania polowe z truciznami dla szczurów najlepiej zaprojektować w taki sposób, aby można było określić śmiertelność (w %) po podaniu zatrutej przynęty. Jednakże, zarówno metody przeprowadzania takich badań, jak i metody określania śmiertelności różnią się w zależności od tego, czy badane jest działanie ostre, czy chroniczne rodentocydu.

2.2 Rodzaj i liczba miejsc zasiedlonych przez szczury użytych w badaniu

Jeśli badaniu poddana jest tylko jedna forma użytkowa, korzystne może być użycie wielu różnych rodzajów miejsc zasiedlonych przez szczury w celu dokonania oceny wszechstronności jej zastosowania. Jeśli porównuje się dwie lub więcej form użytkowych, dobrze jest wybrać populacje szczurów możliwie najbardziej do siebie zbliżone różne kombinacje doświadczenia rozmieścić zgodnie z zasadami analizy czynnikowej i losowo. W tym celu, zaleca się wybranie

miejsc zasiedlonych przez szkodniki, których populacje zdają się być stałe, które są odpowiednio odizolowane od innych pobliskich miejsc zasiedlonych, i których siedliska umożliwiają stosunkowo łatwy dostęp do miejsc, po których szkodniki się poruszają i zaopatrują w pożywienie. W wielu krajach, w przypadku *R. norvegicus*, najbardziej przydatne będą gospodarstwa wiejskie, ale jeśli mamy możliwość użycia potrzebnej liczby podobnych do siebie miejsc z ośrodków miejskich, należy to uczynić. W przypadku *R. rattus*, korzystne jest przeprowadzenie badań w składach hurtowych i innych podobnych budynkach. W celu dokonania oceny możliwości działania pojedynczej formy użytkowej, należy przeprowadzić badania w 6-10 miejscach zasiedlonych przez szkodniki. Jeśli badaniu poddane są jednocześnie dwie lub więcej trucizny i/lub stężenia, trzeba poddać zabiegom odpowiednio większą liczbę miejsc. Należy unikać, o ile o możliwe przeprowadzania badań w miejscach, w których populacje szkodników są bardzo duże lub bardzo nieliczne, oraz siedliska, w których w ostatnich 6 miesiącach użyto ostrych trucizn.

2.3 Przeprowadzanie badań z ostrymi truciznami

Jak już zostało wspomniane, jeśli badaniu poddane są dwie lub więcej formy użytkowe należy poszczególne kombinacje rozmieścić zgodnie z zasadami analizy czynnikowej. Jeżeli nie jest możliwe przeprowadzenie wszystkich zabiegów jednocześnie, należy poczynić starania, aby kolejne powtórzenia zawierały taką samą liczbę zabiegów z każdą trucizną, stężeniem itp., aby zminimalizować wpływ różnych czynników (takich jak warunki pogodowe, lub ruch towarów w składach hurtowych), które są bardzo zmienne w czasie. W związku z tym, że skuteczność zabiegów jest często zależna od umiejętności przeprowadzającego doświadczenie, zaleca się w sytuacjach, gdy jest więcej niż jeden zespół „wykonawców”, aby zostało to również uwzględnione w projektowaniu układu doświadczenia.

2.3.1 Zabiegi bez przynęcania próbnego

Powszechnie uważa się, że ostre trucizny są najbardziej skuteczne przeciwko *R. norvegicus* i *R. Rattus*, kiedy stosuje się je w połączeniu z przynęcaniem próbnym. Jednakże nie zawsze można tak zrobić i jeśli poddana zostanie badaniu trucizna niepoprzedzona przynęcaniem próbnym, można użyć metody, w której przeprowadza się spis liczebności przed zabiegiem, a następnie po upływie przynajmniej 14 dni wyklada się zatrute przynęty.

Jeśli pomiędzy zakończeniem spisu liczebności przed zabiegiem i wyłożeniem trutki mija dużo czasu, wielkość populacji może ulec znaczącej zmianie. Jeżeli okres ten jest krótki, spis liczebności może podzielać jako przynęcanie próbne co doprowadzi do przecenienia skuteczności badanej formy użytkowej stosowanej bez przynęcania próbnego. Podany wyżej okres (14 dni) jest rozwiązaniem kompromisowym. Może on okazać się zbyt krótki i może być modyfikowany w zależności od okoliczności i uznania eksperymentatora.

Procedura

- (a) Po obejrzeniu terenu, należy wystawić puste tace na przynętę na szczyrkach ścieżkach itp. przynajmniej 3 dni przed rozpoczęciem spisu liczebności przed zabiegiem.
- (b) Pierwszego dnia spisu trzeba odważyć określoną ilość pszenicy i wyłożyć porcje około 200 g (nie odważając) na każdą z tac na przynętę. Drugiego dnia należy zebrać niezjedzoną przynętę i zastąpić ją kolejną odważoną ilością przynęty. Jeśli cała przynęta została zjedzona w którymkolwiek z punktów, należy wyłożyć podwójną jej ilość. Należy zważyć całą ilość zebranej niezjedzonej przynęty. W dniu trzecim czynności powtarza się. Czwartego dnia należy zważyć całą ilość zebranej niezjedzonej przynęty. Na podstawie tych wagań należy obliczyć całkowite spożycie przynęty dla każdego okresu 24 godz. i użyć najwyższej wartości spożytej przynęty jako wskaźnika wielkości populacji.
- (c) 14-21 dni później, należy wyłożyć truciznę, zawartą w innym składniku bazowym przynęty, takim jak średniej grubości mielonych płatkach owsianych lub w siekanym zbożu z dodatkiem 5% oleju kukurydzianego na specjalnych tackach, które zostały wystawione przynajmniej 3 dni wcześniej i, na ile to możliwe, w innych punktach niż użyte w spisie liczebności przed zabiegiem. Przynętę pozostawia się na tak długo, na ile pozwalają wymogi bezpieczeństwa oraz inne czynniki, a następnie zbiera się tace wraz z ich zawartością.
- (d) Po upływie siedmiu dni od usunięcia trucizny (lub po dłuższym okresie czasu, w zależności od stwierdzonej laboratoryjnie szybkości, z którą szczury, które spożyły subletalne dawki trucizny powinny powrócić do normalnego odżywiania się) należy dokładnie powtórzyć procedurę przynęcania opisaną dla przeprowadzania spisu liczebności przed zabiegiem. Należy użyć czystych tac na przynęty rozmieszczonych w tych samych miejscach co poprzednio i przez tyle samo dni przed rozpoczęciem wykładania przynęty. W podobny sposób należy obliczyć wskaźnik wielkości ocalałej populacji i na jego podstawie oraz na podstawie wskaźnika spisu liczebności przed zabiegiem wyliczyć śmiertelność (w %) według wzoru podanego w Sekcji 1.3.3.

Alternatywną metodą obliczania śmiertelności (w %), w której unika się wpływu próbnego przynęcania jest wybór odpowiedniej liczby miejsc zasiedlonych przez szkodniki i przyporządkowania tej samej ich liczby losowo każdemu rodzajowi zabiegu i „kontroli”, w której nie będzie wystawiana trutka. Zatem, jeśli ma być przeprowadzone badanie skuteczności dwóch rodzajów zabiegów, jedna trzecia miejsc zostanie przeznaczona na „kontrolę”.

Alternatywna Procedura

- (e) W miejscach przeprowadzania badania należy wyłożyć truciznę zawartą w składniku bazowym, takim jak średniej grubości płatki owsiane lub

grubo siekanym zbożu (nie pszenicy) z dodatkiem 5% oleju kukurydzianego, na tacach rozmieszczonych przynajmniej trzy dni wcześniej. Przynętę pozostawia się na tak długo, na ile pozwalają wymogi bezpieczeństwa oraz inne czynniki, a następnie zbiera się tace wraz z ich zawartością.

- (f) Po upływie siedmiu dni od usunięcia trucizny (lub po dłuższym okresie czasu, jeśli uzna się to za stosowne), należy przeprowadzić dla każdego zabiegu i „kontroli” procedurę obliczania przynęty opisaną w punkcie (b), używając czystych tac. W miejscach przeprowadzania zabiegów, tace te powinny być rozmieszczone możliwie daleko od siebie, w innych miejscach niż te, w których była wyłożona trucizna. Tak jak w punkcie (b), należy uzyskać wskaźniki liczebności ocalałych gryzoni.
- (g) Średnie wskaźników uzyskanych z różnych zabiegów porównuje się z tymi samymi średnimi dla miejsc kontrolnych w celu obliczenia śmiertelności (w %). Nie jest konieczne użycie tej samej liczby miejsc dla kontroli i dla zabiegów, ale powinno ich być co najmniej 6.

2.3.2 Zabiegi z zastosowaniem ostrych trucizn poprzedzone próbnym przynęcaniem

Niedoskonałości stosowania opisaną powyżej metody spisu liczebności przed zabiegiem opartej na ilości spożytej karmy odnoszą się również do badań nad ostrymi truciznami w połączeniu z próbnym przynęcaniem. Rozwiązaniem w takiej sytuacji może być użycie samego próbnego przynęcania w celu określenia wskaźnika wielkości populacji szczurów. Ma to jednak inne wady. Oznacza to bowiem, że trzeba będzie z konieczności użyć tego samego składnika bazowego dla przynęcania próbnego i dla fazy podawania trucizny, i że trzeba będzie posłużyć się inną przynętą w spisie liczebności po zabiegu, ponieważ istnieje możliwość, że szczury, które przeżyją zabieg będą stronić od tej przynęty. Jednakże, Dubock & Rennison (1977) dowiedli, że w przypadku *R. norvegicus*, przy założeniu, że przynęty podawane przed i po właściwym zabiegu zostały wybrane z określonej ograniczonej grupy zbóż, niedokładność wyników uzyskanych przy użyciu drugiej metody (i nakład pracy) są mniejsze niż kiedy spis liczebności przed zabiegiem stanowi część przeprowadzanego doświadczenia. W związku z brakiem odpowiednich danych, zakłada się, że to samo odnosi się do *R. rattus*.

Procedura dla obu gatunków

- (a) Należy dokładnie obejrzeć teren badania, a następnie wyłożyć tace na przynętę na ścieżkach szczurów co najmniej 3 dni przed rozpoczęciem próbnego przynęcania.
- (b) Pierwszego dnia próbnego przynęcania wyklada się przynajmniej 200 g odpowiedniego średnio- do grubo mielonego zboża, takiego jak średniej grubości płatki owsiane lub grysik owsiany (zmieszanego z 5% olejem kukurydzianym lub 5% olejem mineralnym z dodatkiem 5% cukru) na tace. Czwartego dnia należy zebrać całą przynętę i

zastąpić ją nową w większej ilości, odnotowując całkowitą ilość wyłożonej przynęty (tzn. nie ma potrzeby robienia zapisów dla poszczególnych punktów, ale waży się tylko ilość przynęty dostępnej na początku i pozostałej na końcu). Piątego dnia zabieramy przynętę, odnotowujemy całkowitą ilość pobranej przynęty i znów wykładamy świeżą. Należy zapisać całą ilość wyłożonej przynęty. Szóstego dnia należy zabrać przynętę próbną, zapisać całą ilość wyłożonej przynęty i zastąpić ją tą samą przynętą ale z dodatkiem trucizny. Należy obliczyć całkowite pobranie przynęty dla każdego z dwóch ostatnich dni próbnego przynęcania i użyć wyższej wartości wagowej jako wskaźnika wielkości populacji szczurów. Zatrutą przynętę pozostawia się na tak długo, na ile pozwalają wymogi bezpieczeństwa oraz inne czynniki, a następnie zabiera się tace wraz z pozostałościami.

- (c) Po upływie 7-14 dni (tzn. jak tylko na podstawie wcześniejszych obserwacji laboratoryjnych uzyskamy pewność, że wszystkie szczury, które spożyły subletalną dawkę trucizny doszły do zdrowia i zaczęły znów spożywać jedzenie) należy wyłożyć czystą przynętę z pszenicy na czystych tacach, które zostały rozmieszczone co najmniej 3 dni wcześniej, jak najdalej od punktów w których wykładano truciznę. Następnie należy postępować zgodnie z procedurą dla dni 1-6 próbnego przynęcania uzyskując w ten sposób wskaźnik populacji po zabiegu.

2.3.3 Zabiegi z użyciem trucizn w dawkach wielokrotnych (trucizn chronicznych)

Tak jak w przypadku badań polowych nad ostrymi truciznami, trudno jest uniknąć zafałszowań wyników jeśli zabiegi z użyciem trucizn chronicznych są poprzedzone spisem liczebności metodą żywieniową, i, z oczywistych przyczyn, próbne przynęcanie nie jest zazwyczaj stosowane przy użyciu trucizn chronicznych. Efektywna metoda obliczania śmiertelności (w %) w czasie polega na odnotowywaniu liczby punktów z przynętą, gdzie doszło do jej pobrania przez okres trwania zabiegu.

Procedura

- (a) Należy obejrzeć teren i, jeśli mają być użyte tace na przynętę lub osłony, trzeba rozmieścić je przynajmniej na 3 dni przed rozpoczęciem przynęcania. W miarę możliwości, należy unikać używania wymyślnych pojemników na przynętę. Jeśli takich musimy użyć, powinny one zostać rozmieszczone (bez przynęty) co najmniej 7 dni przed rozpoczęciem przynęcania.
- (b) Należy wyłożyć 200-300 g zatrutej przynęty w dużej liczbie punktów i kontrolować je każdego dnia odnotowując liczbę punktów, z których przynęta została pobrana. Punkty „naruszone” należy potraktować jako „pobrane”. Trzeba zapewnić odpowiednią ilość przynęty w każdym punkcie tak, aby zawsze część pozostawała. W celu ułatwienia zadania, w każdym punkcie, z którego

zniknęła cała przynęta, należy wyłożyć podwójną jej ilość.

- (c) Każdego dnia (lub każdego dnia zaczynając od drugiego) należy nanieść liczbę pobrań z ostatnich 24 godz. na wykres, którego rzędna to:

$$\frac{\text{Liczba punktów z pobraniami} \times 100}{\text{Maksymalna liczba pobrań o danym dniu}}$$

a odcięta to albo „liczba dni” lub „log liczby dni”. Liczba punktów (w %) z pobraniami trutki będzie wskazywać na stopień osiągniętego zwalczania.

- (d) Należy kontynuować wykładanie przynęt i sporządzanie notatek jak długo się chce albo do chwili, gdy przynęty pozostają niezjedzone i nie ma śladów zainteresowania nimi ze strony szczurów przez dwa dni pod rząd. Jeśli porównuje się dwie lub więcej form użytkowych, dobrze jest zakończyć zabiegi z każdym z nich po tej samej liczbie dni. Zależeć to jednak będzie od rodzaju przeprowadzanego porównania (np. końcowa śmiertelność (w %) bez ograniczeń czasowych lub śmiertelność (w %) po zabiegu o określonym czasie trwania).

2.4 Dalsza ocena wyników badania

Dalsza ocena wyników badań polowych przeprowadzanych w wyżej opisany sposób zależy od potrzeb eksperymentatora. Jeśli przebadana została tylko jedna forma użytkowa, uzyskane dane na temat śmiertelności (w %) wystarczą do oceny skuteczności działania środka. Jeżeli badaniu poddana została więcej niż jedna forma użytkowa trucizny, uzyskane średnie śmiertelności (w %) z każdą z nich mogą zostać porównane przy pomocy analizy wariancji (Dodatek I), która, jak wykazały doświadczenia (Huson, 1980) jest marginalnie dokładniejszą metodą analizy niż wcześniej zalecana bardziej niezgrabna analiza kowariancji.

Badanie antykoagulantów lub innych trucizn w chronicznych będzie łatwiejsze jeżeli sporządzimy wykres (patrz Dodatek II) dla standardowej trucizny, takiej jak warfaryna. Wykres taki umożliwia porównanie skuteczności działania dowolnej innej trucizny chronicznej z trucizną standardową bez potrzeby przeprowadzania zabiegów na „kontrolach”.

Wykres zamieszczony w Dodatku II okazał się użyteczny przy badaniu trucizn chronicznych przeciwko *R. norvegicus* w Wlk. Brytanii. Każdy eksperymentator chcący użyć tej techniki dla bardzo odmiennych warunków lub w badaniu trucizn chronicznych przeciwko innym gatunkom szczurów powinien sporządzić standardowy wykres opisany w Dodatku II.

Literatura

DUBOCK, A.C. & RENNISON, B.D. (1977) Field evaluation of baits for poison treatments against

Norway rats. Proceedings 1977 British Crop Protection Conference - Pests & Diseases: 451-459.

EPPO (1975) Guidelines for the development and biological evaluation of rodenticides. *EPPO Bull.* **5** (1): 3-49

HUSON, LW. (1980) Statistical analysis of comparative field trials of acute rodenticides. *J. Hyg.* **84** (3): 341-346.

Załącznik I

Przykładowa analiza statystyczna dla danych pochodzących z badań polowych

Tabela 1 podaje wyniki typowego badania polowego z użyciem rodentycydu, przedstawiając je w formie maksymalnych pobrań przez zwierzęta ze spisu liczebności przed i po zabiegu odnotowanych w jednym dniu. Badaniu poddane zostały dwa rodentycydy, TOL 428 i fosforek cynku, w dwóch formach użytkowych przynęty, z samymi średniej grubości płatkami owsianymi oraz z płatkami owsianymi z dodatkiem 5% oleju kukurydzianego i 5% cukru. W badaniu wykorzystano dwanaście gospodarstw rolnych, każdą formę użytkową przyporządkowując losowo określonym gospodarstwom.

Standardowa analiza wariancji pozwala na właściwą obróbkę uzyskanych wyników. Celem analizy jest dokonanie obliczeń statystycznych badania, które posłużą do ocenienia hipotezy zerowej, że wszystkie zabiegi są w równym stopniu efektywne. Wysoka wartość statystyki z próby badania w tej analizie wskazuje na to, że uzyskane dane zaprzeczają hipotezie zerowej. Analiza składa się z następujących kroków:

1. Tworzenie odpowiedniej zmiennej reakcji

Do pomiaru skuteczności każdego zabiegu kontrolnego wymagany jest w tej analizie jeden wzór. Powodzenie procentowe może być obliczone w następujący sposób:

$$\text{powodzenie procentowe} = 100 - \left[\frac{\text{pobrania w liczebności i przed zabiegiem}}{\text{pobrania w liczebności i po zabiegu}} \times 100 \right]$$

np. Dla pierwszych powtórzeń 0.5% formy użytkowej TOL 428 w średniej grubości płatkach owsianych,

$$\text{powodzenie procentowe} = 100 - \left[\frac{1250}{3600} \times 100 \right] = 65.3\%$$

Tabela 2 podaje zmienne reakcji (powodzenie procentowe) dla danych w tabeli 1.

Uwzględnione zostały również różne sumy pośrednie, które będą potrzebne w dalszych obliczeniach. Pozostałą część analizy przeprowadza się na liczbach z tabeli 2.

Tabela 1. Maksymalne wartości wagowe pobrań przynęty ze spisów liczebności przed i po zabiegu (w g), odnotowane w trakcie badań w warunkach polowych nad rodentycydami TOL 428 i fosforkiem cynku

Trucizna	Przynęta			
	Średniej grubości płatki owsiane + 5% olej kukurydziany + 5% cukier		Średniej grubości płatki owsiane	
	Przed zabiegiem	Po zabiegu	Przed zabiegiem	Po zabiegu
0.5% TOL 428	5600	2000	3600	1250
	3300	1000	1600	500
	8400	1850	2600	600
0.5% fosforek cynku	4200	850	2900	300
	2950	150	2700	200
	3500	200	4900	2750

Tabela 2. Zmienna reakcji (powodzenie procentowe) w oparciu o tabelę 1. Obliczone są wartości pośrednie rzędów, kolumn i komórek. Reakcja = $100 - (\text{po zabiegu} / \text{przed zabiegiem} \times 100)$.

Trucizna	Przynęta		Sumy z rzędów
	Średniej grubości płatki owsiane + 5% olej kukurydziany + 5% cukier	Średniej grubości płatki owsiane	
0.5% TOL 428	64.3	65.3	423
	69.7	68.8	
	78.0	76.9	
	suma pośrednia: 212	suma pośrednia: 211	
0.5% fosforek cynku	79.8	89.7	495.2
	94.9	92.6	
	94.3	43.9	
	suma pośrednia: 269	suma pośrednia: 226.2	
Sumy z kolumn	481	437.2	suma całkowita: 918.2

2. Współczynnik korekcji

Współczynnik korekcji dostarcza dobrego sposobu podsumowania analizy wariacji. Dla dowolnego projektu doświadczalnego tego rodzaju jak ten, którym się zajmujemy, współczynnik korekcji obliczany jest w następujący sposób:

współ

Dla obecnego projektu $CF = (918.2)^2/12 = 70257.6$.

3. , , Sumy kwadratów dla trucizn, przynęt oraz współdziałania

Sumy kwadratów są wartościami pośrednimi używanymi do obliczeń statystycznych, które mają za zadanie sprawdzić czy rozsądnym jest zakładać, że zarówno trucizny, jak i przynęty mają taki sam stopień skuteczności. Współdziałanie odnosi się do możliwości, że trucizna różni się skutecznością w różnych przynętach, a badanie takiej możliwej interakcji związana jest z przeprowadzeniem więcej niż jednej obserwacji dla każdej kombinacji trucizny i przynęty. Sumy kwadratów oblicza się w następujący sposób:

Suma kwadratów trucizn

$$\text{Trucizny SS} = (423^2 + 495.2^2)/6 - CF = 434.4$$

gdzie CF jest obliczonym powyżej czynnikiem korekcji, 423 i 495.2 są sumami zmiennych reakcji dla każdej trucizny (tabela 2), a 6 jest liczbą obserwacji uwzględnionych w tych sumach.

Suma kwadratów przynęt

$$\text{Przynęty SS} = (481^2 + 437.2^2)/6 - CF = 159.9,$$

Obliczenie dokładnie analogiczne do tego dla trucizn.

Suma kwadratów dla współdziałania

$$\text{Interakcja SS} = (212^2 + 269^2 + 211^2 + 226.2^2)/3 - \text{Trucizny SS} - \text{Przynęty SS} - CF = 145.6$$

Działanie analogiczne do sum kwadratów trucizn i przynęt, z tym, że posługujące się każdą sumą z komórek z tabeli 2, a dzielnikiem jest 3 ponieważ każda suma z komórek obliczona jest na podstawie 3 obserwacji. Należy zwrócić uwagę na to, że oprócz czynnika korekcji odejmują się też trucizny SS i przynęty SS.

4. Całkowite i resztowe sumy kwadratów

Całkowita suma kwadratów obliczana jest za pomocą danych z indywidualnych obserwacji z tabeli 2, w sposób następujący:

$$\text{Całkowita suma SS} = (64.3^2 + 69.7^2 + 78^2 + \dots + 43.9^2) - CF = 2544.7.$$

Resztową sumę kwadratów uzyskuje się przez odjęcie sum kwadratów trucizn, przynęt i interakcji od całkowitej sumy kwadratów:

$$\text{Resztowa SS} = 2544.7 - (434.4 + 159.9 + 145.6) = 1804.8$$

5. Stopnie swobody

Stopnie swobody (DF) dla dowolnej sumy kwadratów są zazwyczaj o jeden mniej niż liczba sum użytych do obliczenia sum kwadratów. Jeśli do obliczenia sum kwadratów truczyn zostały użyte dwie sumy całkowite, 423 i 495.2, to stopnie swobody będą równe 1. Podobnie stopnie swobody dla przynęty wynoszą 1, a całkowite DF = 11.

Wyjątkiem jest współdziałanie, dla którego DF jest wyliczane jako iloczyn stopni swobody czynników wchodzących w interakcję. Dla obecnego przykładu możliwą interakcją jest interakcja truczyny/przynęty; a zatem jej DF wynosi $1 \times 1 = 1$.

Resztowe DF oblicza się poprzez odejmowanie:

$$\begin{aligned} \text{Resztowe DF} &= \text{Całkowite DF} - (\text{Truczyna DF} + \text{Przynęty DF} + \text{Interakcja DF}) \\ &= 11 - (1 + 1 + 1) = 8 \end{aligned}$$

6. Tabela analizy wariancji

Uzyskawszy powyższe podstawowe wartości, można dokonać analizy wariancji. Jest ona w standardowym układzie i obecny przykład jest przedstawiony w tabeli 3.

Tabela 3. Analiza tabeli wariancji

Pochodzenie wariancji	Suma kwadratów	Stopnie swobody	Średni kwadrat	Obliczona wartość F
Truczyna	434.4	1	434.4	1.93
Przynęty	159.9	1	159.9	0.71
Interakcja	145.6	1	145.6	0.65
Resztowa	1804.8	8	225.6	-
Całkowita	2544.7	11	-	-

Obliczenia dwóch pierwszych kolumn tabeli zostały opisane powyżej. Kolumnę 3, średni kwadrat, uzyskuje się przez podzielenie każdej sumy kwadratów przez odpowiadające im stopnie swobody:

$$\text{Średnia kwadratu truczyn} = 434.4 / 1 = 434.4$$

Obliczoną wartość F jest jako stosunek każdego średniego kwadratu do średniego kwadratu resztowej:

$$\text{Wartość F truczyn} = 434.4 / 225.6 = 1.93,$$

$$\text{Wartość F przynęty} = 159.9 / 225.6 = 0.71,$$

$$\text{Wartość F interakcji} = 145.6 / 225.6 = 0.65.$$

Wartości F są testowymi wartościami statystycznymi doświadczenia używanymi do zbadania hipotez, czy dwie truczyny są równie efektywne, że dwie przynęty mają tę samą skuteczność, i że nie istnieje interakcja pomiędzy przynętami i truczynami.

7. Badanie i interpretacja wyników

Obliczone wartości F z próby porównuje się z wartościami tablicowymi w literaturze (np. Fisher, R.A. & Yates, F., 1975. Statistical tables for Biological, Agricultural and Medical Research ("Tablice statystyczne dla badań z dziedziny biologii, rolnictwa i medycyny"), 6th ed. Longman, London). Wybór właściwej wartości tablicowej zależy od z góry określonego poziomu krytycznego lub poziomu "istotności", i zazwyczaj używa się wartości tablicowej dla $P < 0.05$.

Każdą obliczoną wartość F porównuje się z wartością krytyczną odpowiadającą stopniom swobody związanym ze średnią kwadratu czynnika i średnią kwadratu resztowej. A zatem, średnia kwadratu truczyn ma 1 DF, a resztowe 8 DF, i tablicowa wartość 0.05 F dla 1 i 8 DF wynosi 5.32.

Obliczoną wartość F porównuje się z jej wartością tablicową, i jeśli przekracza ona wartość tablicową, uznaje się dane za sprzeczne z hipotezą, że istnieje wpływ danego czynnika. Jeśli więc obliczona wartość F truczyn przekroczy wartość tablicową, dane uznamy za sprzeczne z hipotezą, że nie było różnicy pomiędzy dwoma truczynami. Obliczona wartość F mniejsza od odpowiadającej jej wartości tablicowej uznana zostaje za zgodną z hipotezą, że dwie truczyny miały tę samą skuteczność.

Dla obecnego przypadku, obliczone wartości F wyniosły 1.93, 0.71 i 0.65. Wszystkie te wartości należy porównać z 0.05 tablicowej wartości F 5.32. We wszystkich przypadkach wartości są niższe niż wartość tablicowa, a zatem dane są zgodne z hipotezą, że nie ma różnicy pomiędzy truczynami, pomiędzy przynętami, i że nie istnieje interakcja pomiędzy przynętami i truczynami.

Załącznik II

Sporządzanie wykresu rozkładu z próby dla monitorowania przebiegu zabiegów z użyciem trucizn i chronicznych na populacjach szczurów

1. Zbieranie podstawowych danych

W celu uzyskania danych potrzebnych do sporządzenia wykresu, należy przeprowadzić badanie na przynajmniej 3 średnio dużych populacjach szczurów wykładając zatrutą przynętę z 0.025% warfaryną (lub jakąkolwiek inną standardową trucizną chroniczną) w zbożowej lub mącznej przynęcie, zgodnie z następującą metodą.

Procedura

- Zaczynając od poniedziałku, należy rozłożyć w dużej ilości na całym terenie opanowanym przez badaną populację po 200-300 g zatrutej przynęty w miejscach zauważonej aktywności szczurów. Przynęty powinny być, w miarę możliwości, za lub pod osłoną w celu zabezpieczenia przed gatunkami niebędącymi przedmiotem badania. W miejscach szczególnej aktywności zwierząt, przynęty powinny się znajdować w odstępach około 2-3 m od siebie. W pozostałych miejscach odstęp między przynętami powinny wynieść 4-6 m. Niektóre należy również umieścić na krańcach obszaru opanowanego przez plagę w celu przyciągnięcia wędrujących szczurów.
- Następnej środy (2 Dzień) i następny dzień pracy, należy skontrolować przynęty i uzupełnić przynętę w każdym punkcie. W punktach, z których została zjedzona cała przynęta, należy wyłożyć podwójną ilość przynęty, aby zapobiec ponownym całkowitym jej pobraniom. Uporządkuj miejsce z przynętą w taki sposób, aby przy następnej kontroli można było łatwo zauważyć ślady jej pobrania lub naruszenia przez szczury. Należy policzyć i odnotować liczbę punktów z przynętą, w których przynęta została pobrana lub naruszona.
- Czynności należy kontynuować w każdej lokalizacji zgodnie z opisem w punkcie (b) dopóki nie odnotowany zostanie brak pobrań lub naruszeń przynęty podczas dwóch kolejnych kontroli. W zależności od gatunku szczurów, każdy zabieg powinien trwać od 2 do 4 tygodni.
- Zapisz liczbę punktów, w których przynęta została pobrana lub naruszona przez szczury każdego dnia, jak w przykładowej tabeli 1.

Tabela 1. Liczba punktów, w których odnotowano pobranie przynęty przez szczury w drugim i kolejnych dniach (z wyłączeniem weekendów) zabiegów z warfaryną w przynęcie ze średniej grubości płatków owsianych owsianej w trzech lokalizacjach.

Dzień tygodnia	Dzień zabiegu	Liczba punktów z pobraną przynętą		
		lokalizacja 1	lokalizacja 2	lokalizacja 3
Śr.	2	79	8	29
Czw.	3	57	8	23
Pt.	4	47	8	21
Sob.	5	-	-	-
Nied.	6	-	-	-
Pon.	7	35	6	15
Wt.	8	10	3	3
Śr.	9	6	1	3
Czw.	10	4	1	4
Pt.	11	4	1	3
Sob.	12	-	-	-
Nied.	13	-	-	-
Pon.	14	2	4	5
Wt.	15	0	1	1
Śr.	16	-	0	0

Dane wzięte z Drummond, D.C & Rennison; B.D. (1973) The detection of rodent resistance to anticoagulants. *WHO Bull.* **48**: 239-242

2. Obliczanie parametrów potrzebnych do sporządzenia wykresu rozkładu z próby

- Przekształć dni wizyt kontrolnych w logarytmy dziesiętne, a liczby pobrań zapisanych każdego dnia w każdej lokalizacji w stosunki procentowe liczby pobrań odnotowanych drugiego 2 pokazane na tabeli 2; uzupełnij tabelę obliczając sumy Y, XY i Y² oraz sumy kolumn.

Tabela 2. Liczby punktów z pobraniami przynęty przez szczury z tabeli 1 przekształcone w stosunki procentowe liczb odnotowanych w każdej lokalizacji drugiego dnia. (Używając skali logarymicznej dni przekształcamy krzywoliniowy stosunek pomiędzy procentami i dniami w stosunek liniowy).

Dzień zabiegu	\log_{10} dzień (X)	Stosunki (Y) punktów z pobraniami					
		Lokalizacja 1	Lokalizacja 2	Lokalizacja 3	Suma Y	Suma XY	Suma Y ²
2	0.30	1.00	1.00	1.00	3.00	0.90	3.00
3	0.48	0.72	1.00	0.79	2.51	1.20	2.14
4	0.60	0.59	1.00	0.72	2.31	1.39	1.87
7	0.85	0.44	0.75	0.52	1.71	1.45	1.03
8	0.90	0.13	0.38	0.10	0.61	0.55	0.17
9	0.95	0.08	0.13	0.10	0.31	0.29	0.03
10	1.00	0.05	0.13	0.14	0.32	0.32	0.04
11	1.04	0.05	0.13	0.10	0.28	0.29	0.03
14	1.15	0.03	0.50	0.17	0.70	0.81	0.28
15	1.18	0.00	0.13	0.13	0.16	0.19	0.03
16	1.20	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
Sumy z kolumn	9.65	3.09	5.15	3.67	SY = 11.91	SXY = 7.39	SY ² = 8.62

(b) Wykorzystać wartości z tabeli 2 do obliczenia parametrów w tabeli 3. Fakt, że obliczone F w tabeli 3 przewyższa F podane w tabeli ukazuje, że regresja Y względem X stanowi znaczącą proporcję całkowitej wariancji w Y oraz, że regresja ta ma przewidywalną wartość. Dopuszczalne jest tym samym narysowanie wykresu. Nie używać wykresu, jeżeli podane w tabeli F jest większe od wyliczonego F.

Tabela 3

Liczba par X i Y i Liczba w lokalizacji 1 + Licz.w lokalizacji 2 + Licz.w lokalizacji 3	N = 32
Suma X $3(0.30) + 3(0.48) + \dots + 3(1.18) + 2(1.20) = 3(9.65) - 1.20$	SX = 27.75
Średnia X = SX/N $27.75/32$	\bar{X} = 0.87
Suma Y = suma z kolumny 6 w tabeli 2	SY = 11.91
Średnia Y = SY/N $11.91/32$	\bar{Y} = 0.37
Suma Y ² $3(0.30^2) + 3(0.48^2) + \dots + 3(1.18^2) + 2(1.20^2)$	SX ² = 26.62
Współczynnik korekcji r = (SX) ² /N $(27.75)^2/32$	Cf = 24.06
Suma kwadratu X = SX ² - (SX) ² $26.62 - 24.06$	S _X ² = 2.56
Suma iloczynów XY = suma z kolumny 7 w tabeli 2	SXY = 7.39
Współczynnik korekcji = (SX)(SY)/N $(27.75)(11.91)/32$	Cf = 10.33
Suma iloczynów xy = SXY - (SX)(SY)/N $7.39 - 10.33$	S _{XY} = -2.94
Suma Y ² = suma z kolumny 8 w tabeli 2	SY ² = 8.62
Współczynnik korekcji = (SY) ² /N $(11.91)^2/32$	Cf = 4.43
Suma kwadratów Y = SY ² - (SY) ² /N $8.62 - 4.43$	S _Y ² = 4.19
Współczynnik regresji Y na X = S _{XY} /S _X ² $-2.94/2.56$	b = -1.15
Intercepcja = $\bar{Y} - b\bar{X}$ $0.37 - (-1.15 \times 0.87) = 0.37 + 1.15(0.87)$	a = 1.37

Table 4. Analiza wariancji

	S.S.	d.f.	m.s.	F
Regresja	$(-2.94)^2/2.56 = 3.38$	1	3.38	125.18*
Resztowa	$4.19 - 3.38 = 0.81$	30	0.027	
Suma	4.19	3131		

3. Rysowanie wykresu rozkładu z próby

Wykres można sporządzić na zwykłym papierze do wykresów arytmetycznych (rys. 1). W związku z tym, że linia regresji na wykresie zaczyna się przy Dniu 2, a nie przy Dniu 0, najłatwiej jest ją wykreślić za pomocą równania regresji $Y = a + bX$ obliczając 3 punkty do połączenia linię. Na przykład:

Dzień 3, $X = 0.48$ i $Y = 1.37 - 1.15(0.48) = 0.82$;

Dzień 10, $X = 1.00$ i $Y = 1.37 - 1.15(1.00) = 0.22$;

Dzień 15, $X = 1.18$ i $Y = 1.37 - 1.15(1.18) = 0.01$.

Linie po obu stronach linii regresji wyznaczają granice, pomiędzy którymi w praktyce powinny znaleźć się 95% stosunków Y kiedy wykres jest wykorzystywany do monitorowania szybkości przebiegu zabiegu z użyciem dawek wielokrotnych. Nie są to linie proste, ale najbliższe linii regresji mediany w $X = \bar{X}$ i najdalsze od linii regresji dla najwyższych i najniższych wartości X . W celu wykreślenia tych linii, należy zatem obliczyć różne wartości na każdej linii po obu stronach średniej.

95% granice ufności przewidywanej wartości Y znajdują się w:

$$Y \pm t_{0.05} \times s \left(1 + \frac{1}{N} \frac{(X - \bar{X})^2}{S_x^2} \right)^{1/2}$$

gdzie $t_{0.05}$ jest wartością tablicową t z $(N-2)$ stopniami swobody dla $P < 0.05$ a s jest pierwiastkiem kwadratowym wariancji resztowej.

W przykładzie,

$$t = 2.042$$

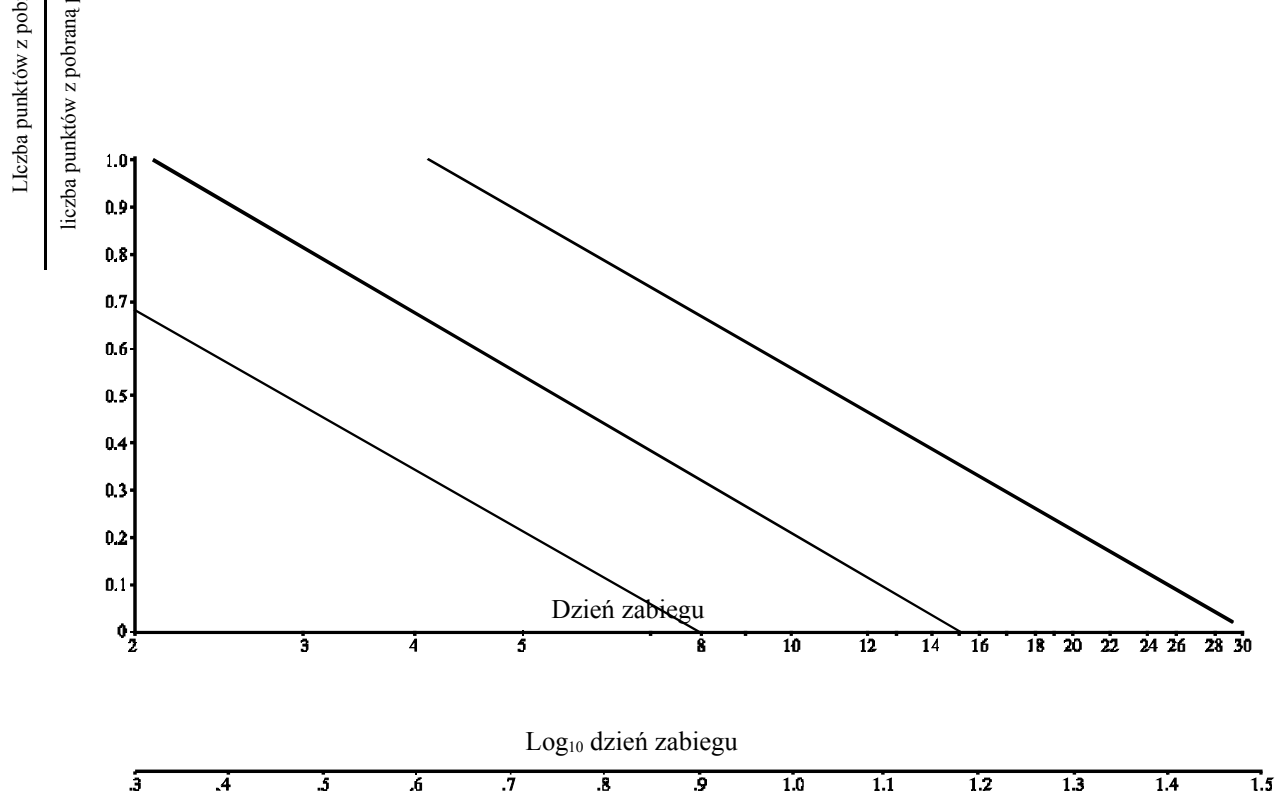
$$s = \sqrt{0.027} = 0.164$$

$$1/N = 1/32 = 0.03$$

a górne i dolne granice dla Y w dniach 2, 7, 8, 10, 15 i 30 wynoszą:

Dzień	GG	DG
2	1.38	0.68
7	0.72	0.06
8	0.67	0.01
10	0.55	-
15	0.35	-
30	0.02	-

Fig 1. Przykładowy wykres monitorowania przebiegu zabiegów z zastosowaniem trucizn w wielokrotnych dawkach przeciwko plagom szczurów. Linia regresji i 95% granice ufności. Szczegółowy opis w tekście.



Załącznik III

Bibliografia opublikowanych badań polowych z rodentycydami zgodnych z normami EPPO

1. BARNETT, S.A. & SPENCER, M.M. (1949) Sodium fluoracetate (1080) as a rat poison. *J. Hyg.* **47**(4): 426-430.
2. DUBOCK, A.C. & RENNISON, B.D. (1977) Field evaluation of baits for poison treatments against Norway rats. *Proceedings 1977 British Crop Protection Conference - Pests & Diseases*: 451-459.
3. RENNISON, B.D. (1974) Field trials of the rodenticide 5-p-chlorophenyl silatrane against wild rats (*Rattus norvegicus* Berk). *J. Hyg.* **73**: 45-48.
4. RENNISON, B.D. (1974) Field trials of calciferol against warfarin resistant infestations of the Norway rat (*Rattus norvegicus* Berk). *J. Hyg.* **73**: 361-367.
5. RENNISON, B.D. (1976) A comparative field trial, conducted without pre-treatment census baiting, of the rodenticides zinc phosphide, thallium sulphate and gophacide against *Rattus norvegicus* *J. Hyg.* **77**: 55-62.
6. RENNISON, B.D. & HADLER, M.R. (1975) Field trials of difenacoum against warfarin-resistant infestations of *Rattus norvegicus* *J. Hyg.* **74**: 449-455.
7. RENNISON, B.D., HAMMOND, L.E. & JONES, G.L. (1988) A comparative trial of norbormide and zinc phosphide against *Rattus norvegicus* on farms. *J. Hyg.* **66**: 147-158.
8. ROHE, D.L. (1966) Field evaluation of the rodenticides fluoroacetamide and norbormide against roof rats in sewers. *Calif. Vectors News* **13** (11): 79-82.
9. ROWE, F.R. & BRADFIELD, A. (1975) Comparative acute and chronic toxicity tests on confined colonies of wild house mice (*Mus musculus* L.). *Proceedings of 4th British Pest Control Association Conference*, St Helier, Jersey, Paper 19, 6 pp.
10. ROWE, F.R. & BRADFIELD, A. (1976) Trials of the anticoagulant rodenticide WBA 8119 against confined colonies of warfarin-resistant mouse mice (*Mus musculus* L.). *J. Hyg.* **77**: 427-431.
11. ROWE, F.R. & BRADFIELD, A. (1977) The use of confined colonies of wild mice (*Mus musculus* L.) in the evaluation of rodenticides. *EPPO Bull.* **7** (2): 427-431.
12. ROWE, F.R. & NEVE, M. (1961) Two field trials of diphacinone against the house-mouse (*Mus musculus* L.). *Parasitica* **17** (4): 170-175.
13. ROWE, F.R., SMITH, F.J. & SWINNEY, T. (1974) Field trials of calciferol combined with warfarin against the wild house-mice (*Mus musculus* L.). *J. Hyg.* **73**: 353-360.
14. ROWE, F.P., SWINNEY, T. & PLANT, C. (1978) Field trials of brodifacoum (WBA 8119) against the house mouse (*Mus musculus* L.). *J. Hyg.* **81**: 197-201.

Rodentycydy i badane gryzonie omówione w numerowanych pozycjach z powyższej bibliografii

Trucizny	Gryzoń		
	<i>Mus musculus</i>	<i>Rattus norvegicus</i>	<i>Rattus rattus</i>
alfa-chloraloza			
brodifakum	10, 11, 14		

bromadiolon			
kalcyferol	9, 11, 13	4	
chlorofacynon			
kumachlor			
kumafuryl			
kumatetralyl			
krimidyna			
difenakum	9, 10, 11	6	
difacynon	12		
fluoroacetamid			8
norbormid		7	8
pindon			
fluorooctan sodu		1	
Valone			
warfaryna	9, 11, 13	4, 6	
fosforek cynku	9,11	2, 3, 5, 7	