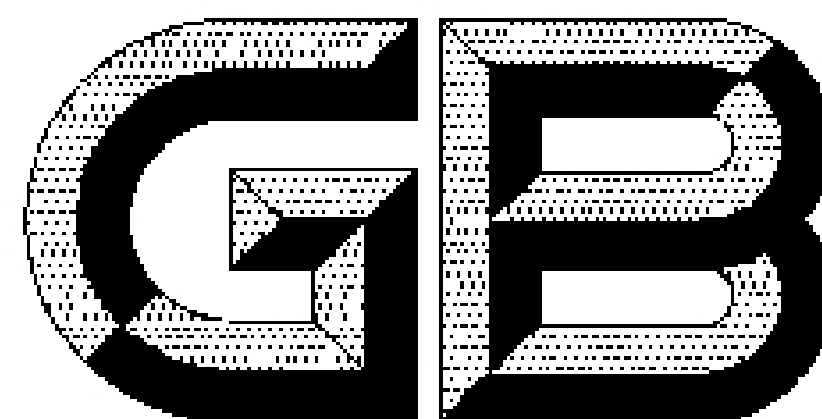




中华人民共和国国家标准化指导性技术文件

GB/Z 31812—2015

饲料原料和饲料添加剂水产靶动物 有效性评价试验技术指南

Technical guidelines for efficacy studies of feed material and
feed additive in aquaculture target animals

2015-07-03 发布

2015-10-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会 发布

前 言

本指导性技术文件按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本指导性技术文件由全国饲料工业标准化技术委员会(SAC/TC 76)提出并归口。

本指导性技术文件起草单位:全国饲料评审委员会、中国水产科学研究院淡水渔业研究中心。

本指导性技术文件主要起草人:王黎文、谢骏、薛敏、丁健、杜伟。

饲料原料和饲料添加剂水产靶动物 有效性评价试验技术指南

1 范围

本指导性技术文件规定了饲料原料和饲料添加剂水产靶动物有效性评价试验的基本原则、试验类型、受试物、试验方案设计、试验实施、试验报告和资料存档要求。

本指导性技术文件适用于以水产动物为靶动物的饲料原料、饲料添加剂的有效性评价试验。

2 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

2.1

靶动物 target animal

饲料原料或饲料添加剂所适用的特定动物。

2.2

受试物 test substance

被评价的饲料原料或饲料添加剂样品。

2.3

长期有效性评价试验 long-term efficacy study

在接近实际生产条件下,以能够代表靶动物适用养殖阶段的饲喂时限为试验期,通过观测靶动物生产性能、生理生化指标、健康状况等,评价特定适用阶段内受试物饲喂效果的试验。

2.4

短期有效性评价试验 short-term efficacy study

在较短时间内可以评价受试物特定功效的试验,包括但不限于生物有效性试验、生物等效性试验、体内消化试验、收支试验和适口性试验。

2.5

生物有效性 bioavailability

受试物中的活性物质或其代谢产物被吸收、转运到靶组织或靶细胞并表现出典型功能或效应。

2.6

生物等效性 bioequivalence

两种受试物在靶动物上具有相同的生物功能或效应。

2.7

体内消化试验 in vivo digestion study

通过测定靶动物对某种营养素或能量的摄入量以及粪排出量,进而评价营养素或能量在动物消化道内被消化吸收程度的试验。

2.8

收支试验 budget study

通过测定和比较靶动物对某种营养素或能量的摄入量和排出量之间的关系,进而评价营养素或能量的摄入、排出和体内沉积间收支关系的试验。

2.9

适口性试验 palatability study

在摄食环境相同的前提下评价靶动物对不同受试物偏好的试验。

2.10

试验持续时间 study duration

有效性评价试验从靶动物饲喂开始至结束的时间,不包括预饲期和饲养试验结束后对样本的检测时间。

2.11

最短试验期 minimum study duration

对长期有效性评价试验持续时间的最低要求。

3 基本原则

3.1 靶动物有效性评价试验应对受试物所适用的靶动物分别进行评价,但本指导性技术文件以及其他另有规定的特殊情况除外。

3.2 靶动物有效性评价试验应与我国的水产养殖业生产水平相一致,以保证评价结果的科学性和客观性。

3.3 靶动物有效性评价试验应由具备专业知识和试验技能的人员在适宜的试验场所、使用适宜的设施仪器、按照规范的操作程序进行,并且由试验机构指定的人员负责。

3.4 当试验条件和受试物特性受限时,可以进行多个有效性评价试验,但每次试验应采用相同的设计并在相似的试验条件下进行,以保证试验数据的可比性。当试验次数超过 3 次时,推荐采用整合分析法(meta-analysis)进行数据统计。

4 试验类型

4.1 短期有效性评价试验

4.1.1 评价受试物中的活性物质或其代谢产物被吸收、转运到靶组织或靶细胞的程度,可采用生物有效性试验;评价两种受试物是否在靶动物体内具有相同生物学作用,可采用生物等效性试验;评价受试物对靶动物体内某种营养素或能量消化率(如表观消化率、真消化率)的影响,可采用体内消化试验;评价受试物对某种营养素或能量在靶动物体内沉积和排出的影响,可采用收支试验;评价受试物对靶动物摄食偏好的影响,可采用适口性试验。

4.1.2 收支试验除了可以获得消化试验的数据外,还可获得营养素或能量在靶动物体内沉积和排出等数据,故推荐优先采用。

4.1.3 适口性试验应在相同条件下,用受试物配制的饲料投喂靶动物,记录一定时间内的摄食量。试验期至少 2 周,每个处理重复数和每个重复的动物数按照附录 A 中相应动物种类的规定执行。预饲期 2 周,只投喂对照组饲料(受试物为饲料添加剂时)或各处理组饲料的等量混合物(受试物为饲料原料时)。

4.2 长期有效性评价试验

生长性能、饲料转化效率、体组成和繁殖性能等常规指标,应通过长期有效性评价试验进行测定。

5 受试物

受试物应来自保质期内的符合既定质量标准的规格化产品。

6 试验方案设计

6.1 总体要求

每个试验开始前,应针对受试物的作用功效,对试验进行系统设计,明确试验设计方法,形成书面的试验方案,并由试验负责人签字确认。

6.2 受试物信息

6.2.1 试验方案应明确受试物及其有效成分的通用名称、生产单位、含量规格、生产批号、有效成分含量的测试方法及测试结果、测试机构。

6.2.2 受试物有效成分含量可以由评价机构自行检测,也可委托国家或饲料行业主管部门认可的质检机构进行检测。

6.3 试验饲料

6.3.1 试验方案应描述饲料的加工方法、饲料配方及相关的营养成分含量(实测值)和能量水平。

6.3.2 应根据受试物特点、使用方法和靶动物营养需要配制饲料,使用的饲料原料和饲料添加剂应符合我国法规和相关标准要求;饲料不得受到污染。

6.3.3 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。

6.4 试验动物与分组

6.4.1 试验方案应明确所用动物的信息,包括类别、品种或品系(名称后以斜体注明拉丁文名称)、体重、健康状况和动物来源(必要时注明体长和性别)、试验组和对照组数量、每组重复数和每个重复的动物数、受试物有效成分在各试验组饲料中的添加量和含量实测值。

6.4.2 试验动物应健康并且来源相同,试验分组应遵循随机、重复和局部控制的原则;对于短期有效性评价试验,动物数量应满足统计学要求;对于长期有效性评价试验,每组重复数和每个重复的动物数应按照附录 A 中的规定执行。

6.4.3 试验应证明受试物最低推荐添加量的有效性,一般通过设定对照和选择敏感靶指标进行。必要时可设正负两个对照。

6.4.4 长期有效性评价试验应采用梯度剂量法为受试物推荐添加量或添加量范围的确定提供依据。饲料添加剂的梯度水平(含负对照)不得少于 6 个;饲料原料的梯度水平(含负对照)不少于 3 个。

6.4.5 当有效性评价试验的目的是证明受试物能为靶动物提供营养素时,应设置一个该营养素水平低于动物需求、但又不致严重缺乏的对照饲料。

6.5 试验期

6.5.1 试验方案应根据靶动物的不同养殖阶段明确相应的试验期,同时对预饲期作出说明。

6.5.2 长期有效性评价试验的试验期应符合附录 A 的规定;附录 A 中没有列出的其他水产动物品种,应参照生理和养殖阶段相似物种的要求进行。

6.6 饲养管理

6.6.1 试验方案应明确饲养条件、投喂方式、养殖设施的形状和规格、水体体积、光照条件、水温、水质（如溶氧、氨氮、亚硝酸盐、pH、盐度等）、养殖系统的运行状态、预饲期的条件要求以及预处理措施。

6.6.2 应选择适宜的饲养环境，使其对试验结果不造成影响；预处理措施不应干扰受试物的作用模式。

6.7 观察与检测指标

6.7.1 试验方案应明确各观察和检测指标的名称、频次以及检测样本的采集时间、采集方法和保存条件。

6.7.2 长期有效性评价试验的检测指标包括：试验开始和结束体重、饲料摄食量、死亡率；同时应根据受试物的作用特点和用途，增加相应的特异性观察与检测指标。

6.8 检测方法

6.8.1 试验方案应明确各检测指标相对应的检测方法。

6.8.2 检测方法应采用国家标准、行业标准、国际标准或国际公认方法。如果采用文献报道方法或新建方法，应提供方法确证的数据资料，说明其合理性。

6.9 统计分析

6.9.1 试验方案应明确具体的统计分析方法。

6.9.2 试验结果的统计分析应以重复为单位，统计显著性差异水平应达到 $P < 0.05$ 。

7 试验实施

7.1 试验应按确定的试验方案实施。

7.2 试验实施过程中，试验方案所涉及的内容均应逐一记录，并由记录人签字。记录应真实、准确、完整、规范，并妥善保管。

7.3 动物个体和各试验组发生的所有非预期的突发情况，都应记录其发生的时间和波及范围。

7.4 试验过程中如果动物出现疾病，治疗措施不应干扰受试物的作用模式，并逐一记录，如疾病类型、解剖观察结果（如照片等）及其发生时间等。

7.5 试验过程中获取的检测样本应注明其属性和采集时间，并妥善保管，以便进一步分析研究。

7.6 采集的样本应根据其特性和要求在适宜的时间内完成检测，以保证检测结果的科学性。数据的有效数字以所用仪器的精度为准，并采用国家法定计量单位。

8 试验报告

8.1 靶动物有效性评价试验结束后应编制完整的试验报告。试验报告应准确、客观地陈述试验过程及试验结果。

8.2 试验报告应包含封面（见附录 B）、试验概述表（见附录 C）和报告正文三部分。

8.3 报告正文至少应包括：

- a) 试验名称。
- b) 摘要。
- c) 试验目的。
- d) 受试物信息，至少应包括 6.2.1 中规定的内容。

- e) 试验机构名称和地点,试验起始和持续时间,同时明确预饲期。
- f) 材料和方法:
 - 1) 至少应包括:试验设计与处理、试验饲料、试验动物与分组、饲养管理、观察与检测指标、检测方法、统计分析。
 - 2) 对于检测方法,采用国家标准、行业标准或国际标准的,应提供对应的标准编号;采用文献报道方法或新建方法的,需附方法确证的数据资料及其合理性说明;对于样本委托其他单位检测的,还应注明受托单位的名称。
- g) 结果与分析:检测数据应以平均值和标准误表示,并给出各项指标统计显著性的 P 值。
- h) 结论:应归纳总结受试物的使用效果(正效果/负效果)、明确推荐添加量(或范围)和注意事项。
- i) 参考文献。
- j) 统计分析中未采用的数据及其在各组别中的分布情况说明,或由于数据缺乏、数据丢失而无法评价的具体情况说明。
- k) 受试物委托其他单位检测的,应提供受托检测机构出具的受试物样品的检测报告。

8.4 应对试验报告每页进行编码,格式为“第 页,共 页”。

8.5 报告签发:试验操作人员、试验负责人和报告签发人应分别在试验概述表相应栏目内逐一签名,并由报告签发人注明签发时间;报告应加盖试验机构骑缝章,确保报告的完整性。

9 资料存档

试验方案、试验报告(包括阶段性报告和最终报告)、原始记录、图表和照片、受试物样品及其检测报告等原始资料应于试验机构存档备查,受试物样品保存时间不得少于 5 年,其他资料不得少于 10 年。

附 录 A
(规范性附录)
试验期和动物数量

表 A.1 水产靶动物种类、试验期和动物数量^a

大类	亚类	试验起始至结束动物所处的养殖阶段		最短试验期 ^b	最少试验重复和动物数量
		起始体重	结束体重		
鱼类	淡水鱼类(代表物种:鲤、鲫、草鱼、青鱼、团头鲂、罗非鱼、斑点叉尾鲟、虹鳟、鲟、鳊、大口黑鲈)	1 g~50 g	—	至少增重 5 倍,且不少于 10 周	每个处理 6 个有效重复,每个重复 30 尾
	海水鱼类(代表物种:鲈、鲷、大黄鱼、大菱鲆、石斑鱼、军曹鱼)	1 g~50 g	—	至少增重 5 倍,且不少于 10 周	每个处理 6 个有效重复,每个重复 30 尾
甲壳类	虾(代表物种:日本沼虾、罗氏沼虾、凡纳滨对虾、斑节对虾)	0.1 g~1.0 g	—	至少增重 5 倍,且不少于 8 周	每个处理 6 个有效重复,每个重复 50 尾
	蟹(代表物种:中华绒螯蟹、三疣梭子蟹、拟穴青蟹)	0.5 g~5 g	—	至少增重 5 倍,且不少于 8 周	每个处理 6 个有效重复,每个重复 30 只
爬行类	龟鳖类(代表物种:中华鳖、乌龟)	5 g~10 g	—	至少增重 5 倍,且不少于 10 周	每个处理 6 个有效重复,每个重复 30 只
两栖类	蛙类(代表物种:牛蛙、虎纹蛙、棘胸蛙)	5 g~10 g	—	至少增重 5 倍,且不少于 10 周	每个处理 6 个有效重复,每个重复 30 只
水产养殖动物亲本		繁殖前期	繁殖期	12 周	每个处理 15 个有效重复,每个重复 1 尾(只)
^a 以“亚类”中的任意代表物种进行的试验,其结果可结合具体情况推广至该亚类中的同科动物。 ^b 试验起始至结束动物均应处于所对应的养殖阶段内。					

附 录 B
(规范性附录)
试验报告封面

报告题目：_____

试验机构：_____（加盖公章）

签 发 人：_____

报告日期：_____

委托单位：_____

附 录 C
(规范性附录)
试验概述表

表 C.1 试验概述表

试验编号：		第 页,共 页	
受试物	受试物通用名称：	有效成分：	
	有效成分标示值：	有效成分实测值：	
	产品类别：	外观与性状：	
	生产单位：	生产日期及批号：	
	样品数量及包装规格：	保质期：	
	收(抽)样日期：	送(抽)样人：	
	抽样地点：(适用时)	抽样基数：(适用时)	
试验动物	试验动物品种：	拉丁名：	
	性别：	起始体重(体长)：	
	健康状况：	光照条件：	
	水温 and 水质(包括溶氧、氨氮、亚硝酸盐、pH、盐度)：		
	养殖设施	投喂方式	
时间与场所	试验起始时间：	试验持续时间：	
	试验场所：		
设计与分组	试验设计方法：		
	试验组数量(含对照组)：		每组重复数：
	每个重复动物数：		试验动物总数：
	受试物添加途径：		
		饲料中有效成分添加量	饲料中有效成分含量
	试验组 1		
	试验组 2		
	试验组 3		
			
	对照物质名称： (适用时)	对照物质在饲料中添加量	对照物质在饲料中含量

表 C.1（续）

试验编号：		第 页，共 页	
试验饲料	饲料组成(营养素和能值)		
		计算值	实测值
	成分 1		
	成分 2		
	成分 3		
试验饲料			
	饲料形态	粉料 ☐ 颗粒 ☐ 膨化 ☐ 活饵料 ☐ 其他	
检测项目和实施时间			
治疗和预防措施(原因、时间、种类、持续时间等)			
数据统计分析方法			
突发事件的处理、不良后果发生的时间及发生范围			
结论			
原始记录保管			
备注			
试验人员签名：		项目负责人签名：	报告签发人签名：
			签发时间： 年 月 日