ICS 65.120
B 46

中华人民共和国国家标准

GB/T 22488—2008

水产饲料安全性评价
亚急性毒性试验规程

Principle of aquafeed safety evaluation—Sub-acute toxicity test

2008-11-04 发布　　2009-02-01 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

食品伙伴网http://www.foodmate.net

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
水产饲料安全性评价
亚急性毒性试验规程
GB/T 22488—2008
*
中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号
邮政编码:100045
网址 www.spc.net.cn
电话:68523946 68517548
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 0.5 字数 9 千字
2009年3月第一版 2009年3月第一次印刷
*
书号:155066·1-35925 定价 10.00 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)68533533

食品伙伴网http://www.foodmate.net

前　言

本标准是在参阅了GB 15193.13—2003《30天和90天喂养试验》、NY/T 1031—2006《饲料安全评价 亚急性毒性试验》及国内外相关文献的基础上，根据我国技术发展水平研究制定的。

本标准由全国饲料工业标准化技术委员会提出并归口。

本标准起草单位：中国农业科学院饲料研究所、国家水产饲料安全评价基地。

本标准主要起草人：薛敏、刘海燕、吴秀峰。

食品伙伴网http://www.foodmate.net

水产饲料安全性评价 亚急性毒性试验规程

1 范围

本标准规定了水产饲料安全性评价亚急性毒性试验规程的基本技术要求。

本标准适用于水产配合饲料、水产饲料原料及水产饲料添加剂的安全性评价，不包括饲料药物添加剂。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本标准，然而，鼓励根据本标准达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本标准。

GB/T 5917.1 饲料粉碎粒度测定 两层筛筛分法

GB 11607 渔业水质标准

GB 13078 饲料卫生标准

GB/T 22487 水产饲料安全性评价 急性毒性试验规程

NY 5072 无公害食品 渔用配合饲料安全限量

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本标准。

3.1

最大未观察到有害作用剂量 no-observed-adverse-effect-level；NOAEL

通过动物试验，以现有的技术手段和检测指标未观察到与受试物有关的毒性作用的最大剂量。

3.2

靶器官 target organ

试验动物出现由受试物引起的明显毒性作用的任何器官。

3.3

流水养殖系统 flow-through system

来自系统外的养殖用水连续或间歇地流经养殖容器的养殖系统。

3.4

循环水养殖系统 recirculation system

养殖用水在系统内经过净化处理后循环使用的养殖系统。

3.5

初始体重 initial body weight；IBW

试验结束时水产动物的平均重量。

3.6

终末体重 final body weight；FBW

试验结束时试验动物的平均重量。

食品伙伴网http://www.foodmate.net

3.7

摄食率　feeding rate;FR

试验期间,试验水产动物平均体重的日摄食量百分数,计算公式见式(1)。

$$摄食率 = R_1/[(W_0 + W_t)/2]/t \times 100\% \quad \cdots\cdots(1)$$

式中:

R_1,t,W_0 与 W_t——分别为摄食量,试验天数,初始总体重与终末总体重。

3.8

饲料转化比(饲料系数)　feed conversion ratio;FCR

试验期间,试验水产动物单位增重所消耗的饲料量,计算公式见式(2)。

$$饲料转化比 = R_1/(W_t + W_d - W_0) \quad \cdots\cdots(2)$$

式中:

R_1,W_t,W_d 与 W_0——分别为摄食量,终末总体重,死亡试验动物体重与初始总体重。

3.9

增重率　weight gain;WG

试验水产动物在试验期间的增重相对于初始体重的百分率,计算公式见式(3)。

$$增重率 = (FBW - IBW)/IBW \times 100\% \quad \cdots\cdots(3)$$

式中:

FBW 与 IBW——分别为终末体重与初始体重。

3.10

特定生长率　specific growth rate;SGR

试验水产动物在试验期间的日增重速率,计算公式见式(4)。

$$特定生长率 = [\ln(FBW) - \ln(IBW)]/t \times 100\% \quad \cdots\cdots(4)$$

式中:

FBW,IBW 与 t——分别为终末体重,初始体重与试验天数。

3.11

存活率　survival

试验期间,试验水产动物的存活数占初始数的百分率,计算公式见式(5)。

$$存活率 = 存活尾数 / 初始尾数 \times 100\% \quad \cdots\cdots(5)$$

4　原理

通过在饲料中添加受试物,观察试验动物在摄食后所产生的摄食、生长及生理生化上的各种反应,以提出短期饲喂不同剂量的受试物对动物引起有害效应的剂量,阐明毒性作用的性质,为慢性试验的剂量选择和观察指标的确定提供依据。

5　试验动物

选择依据 GB/T 22487 所筛选的对受试物敏感的水产动物作为试验动物,试验动物选用种质纯正、体格健康、规格整齐的同批苗种。正式试验前应有 2 周的驯养期,并且保证试验水产动物的健康活泼。

6　剂量与分组

6.1　剂量设计参考的原则

6.1.1　原则上高剂量组的动物在饲喂受试物期间应当出现明显中毒表现,低剂量组不出现中毒表现。在此二剂量间再设一到几个剂量组,以期获得比较明确的剂量-反应关系。对能或不能求出经口或注射 LD_{50} 的受试物分别进行规定。

食品伙伴网http://www.foodmate.net

6.1.2 能求出经口或注射 LD_{50} 的受试物：以经口服或注射 LD_{50} 的 10%～25%作为亚急性毒性试验的最高剂量组，此 LD_{50} 百分比的选择主要参考 LD_{50} 剂量-反应曲线的斜率。然后在此剂量下设几个剂量组，最低剂量组至少是试验水产动物可能摄入量的 3 倍。

6.1.3 对于不能求出经口或注射 LD_{50} 的受试物：亚急性毒性试验应尽可能涵盖试验水产动物可能摄入量 100 倍的剂量组。对于试验水产动物摄入量较大的受试物，高剂量可以按在饲料中的最大掺入量进行设计。

6.2 分组

至少应设 3 个剂量组和 1 个对照组，每组不少于 6 个重复，每个重复至少 30 个个体。

7 操作步骤

7.1 受试物的处理

将受试物粉碎至所要求的粒度（全部通过筛孔 0.425 mm 的分样筛），粒度的测定方法符合 GB/T 5917。根据受试物试验剂量的设计，把受试物添加到试验水产动物的配合饲料中，液体受试物按照试验剂量直接添加到其他原料的混合物中。充分混合，适当加工，制成营养组成、适口性、水稳定性、粒径等特性都符合试验目的和试验水产动物要求的试验饲料，减少受试物以外的因素对试验动物的影响。受试配合饲料直接饲喂。对某一种受试物进行评价时，要考虑到饲料配方中是否存在其他拮抗或协同作用的成分。在确定配方前分析相关原料常规营养成分，并分析其卫生指标，结果应符合 GB 13078 和 NY 5072 标准。

7.2 受试物的给予

7.2.1 途径

将含有受试物的试验饲料喂养试验水产动物（应注意受试物在饲料中的稳定性）。当受试物添加到饲料时，需将受试物剂量按每 100 g 试验水产动物体重的摄入量折算为饲料的量（mg/kg）。

7.2.2 试验开始及结束前空腹

试验水产动物在试验开始及结束前均应空腹 24 h。

7.2.3 试验周期

试验周期为 56 d。

7.3 试验条件

7.3.1 试验系统

对于水溶性受试物的安全性评价使用流水养殖系统，对于非水溶性受试物的安全性评价使用流水养殖系统或循环水养殖系统，废水排放要符合国家有关环保规定。

7.3.2 养殖条件

试验期间要保持养殖系统水温、光照条件及养殖密度等条件处于养殖对象的最适生长要求范围。

7.3.3 水质条件

养殖过程中的水质应符合 GB 11607 的要求。

7.3.4 试验管理

正式试验开始时，迅速将水产动物捞出、称重，此操作要快速而轻微，尽量减小对水产动物的刺激。各处理组水产动物的初始体重要求尽量接近，统计学差异不显著。

试验水产动物要定时定量或表现饱食投喂，详细记录投喂量及残饵量，测定饲料的溶失以准确计算试验水产动物的摄食量。

试验结束时称重、取样，必要时使用麻醉剂，以降低各种操作对试验水产动物的刺激作用。

7.4 观察指标

7.4.1 摄食、生长、饲料利用及存活指标

每天观察并记录试验水产动物的一般表现、中毒表现、摄食和死亡情况。试验结束时称重。评价终末体重、摄食率、饲料系数、增重率、特定生长率、存活率等指标。

食品伙伴网http://www.foodmate.net

7.4.2 血液学指标

试验结束时，测定试验水产动物血红蛋白、红细胞计数、白细胞计数及分类、红细胞比容。依受试物情况，必要时测定其他相应指标。

7.4.3 血液生化指标

试验结束时，测定血清或血浆的谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、尿素氮(BUN)、血糖(Glu)、总蛋白(TP)、总胆固醇(TCH)和甘油三酯(TG)。依受试物情况，必要时测定其他相应指标。

7.4.4 免疫和抗氧化指标

试验结束时，测定血清或血浆的血清溶菌酶(LYS)、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)。依受试物情况，必要时测定其他相应指标。

7.4.5 病理检查

7.4.5.1 大体解剖

试验结束时对试验水产动物进行解剖检查，并将重要器官和组织固定保存。

7.4.5.2 脏器称重

测定内脏、肝脏(或肝胰腺)的绝对重量和相对重量(内脏比和脏/体比值)。测定脏器的绝对重量时应将分离的内脏、肝脏用滤纸等试验材料除去水分。

7.4.5.3 组织病理学检查

在对各剂量组动物做解剖观察未发现明显病变和生化指标未发现异常后，对最高剂量组及对照组动物的主要脏器进行组织病理学检查，发现病变后再对较低剂量组相应器官及组织进行组织病理学检查。肝脏(或肝胰腺)、肾脏的组织病理学检查为必测项目。其他组织和器官的检查则需根据不同情况确定。

7.4.6 其他指标必要时，根据受试物的性质及所观察的毒性反应，增加其他敏感指标并进一步进行慢性毒性试验和残留试验。

8 数据处理

试验设计时应选择适当的统计学方法，将所有观察到的结果都进行统计学分析和评价。完整、准确地描述对照组与各剂量组试验水产动物间各项指标的差异，以显示其毒性作用。

9 试验报告

报告应阐明设计、试验方法、毒性表现和受试物的饲用可行性评价。

对照组饲料符合试验水产动物的营养需求，平均相对增重率高于200%，存活率不低于90%。

根据统计结果，与对照组相比没有显著差异的摄食剂量为最大未观察到有害作用剂量，并且确定引起有害效应的剂量、毒作用性质及靶器官，为慢性试验的剂量选择和观察指标的确定提供依据。

GB/T 22488-2008

版权专有 侵权必究

*
书号：155066·1-35925
定价： 10.00 元

食品伙伴网http://www.foodmate.net