

中华人民共和国农业行业标准

NY/T XXXX—XXXX

动物性食品中兽药最大残留限量标准
制定技术规范

Technical specification for establishment of maximum residue limits for
veterinary drugs in animal derived food

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中华人民共和国农业农村部

发布

前 言

本文件的附录A为规范性附录。

本文件由农业农村部畜牧兽医局提出并归口。

本文件起草单位：中国兽医药品监察所，华中农业大学。

本文件主要起草人：徐士新、黄玲利、黄耀凌、张玉洁、白玉惠、王亦琳、潘源虎、李丹、孙雷。

征求意见稿

动物性食品中兽药最大残留限量标准制定技术规范

1 范围

本文件规定了动物性食品中兽药最大残留限量（Maximum Residue Limit, MRL）标准制定的技术规范。

本文件规定的兽药最大残留限量制定技术规范分为完全制定程序和简易制定程序。完全制定程序适用于国际组织未确定每日允许摄入量（Acceptable Daily Intake, ADI）和我国创新性兽药 MRL 的制定。简易制定程序适用于已经确定 ADI 值的兽药或已批准一种靶动物 MRL 的兽药增加其他靶动物或其他组织 MRL 的制定。

2 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。

3 术语与定义

3.1 兽药残留（Veterinary Drug Residue）

指食品动物用药后，动物产品的任何可食用部分中所有与药物有关的物质的残留，包括药物原型或/和其代谢产物。

3.2 未观察到不良作用剂量（No Observed Adverse Effect Level, NOAEL）

指未观察到药物对动物产生任何不良反应的最大剂量。

3.3 每日允许摄入量（Acceptable Daily Intake, ADI）

指人的一生中每日从食物或饮水中摄取某种物质而对其健康没有明显危害的量，以人体重为基础计算，单位： $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重。

3.4 急性参考剂量（acute reference dose, ARfD）

指人在 24 小时或更短时间内，通过膳食或饮水摄入某物质，而不产生可检测到的危害健康的估计量，以每千克体重可摄入的量表示，单位为 $\text{mg}/\text{kg bw}$ 。

3.5 总残留（Total Residue）

指食品动物用药后，动物产品的任何可食用部分中药物原形或/和其所有代谢物的总和。

3.6 靶组织（Target Tissue）

指食品动物用药后，药物原型及其代谢物消除最慢的可食性组织。

3.7 残留标志物（Marker Residue）

指食品动物用药后，可食性组织中残留量与总残留量有明确相关性的残留物。可以是药物原形，也可以是代谢物或药物原形与代谢物的加和，或者是可转为单一衍生物或药物分子片段的残留物总量。

3.8 最大残留限量 (Maximum Residue Limit, MRL)

对食品动物用药后，允许存在于可食性组织表面或内部的残留标志物的最大残留量/浓度（以鲜重计，表示为 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ）。

3.9 理论最大每日摄入量 (Theoretical Maximum Daily Intake, TMDI)

指食品动物按推荐给药方案用药后，根据可食性组织中推荐的 MRLs、食物消费系数、残留标志物浓度与总残留浓度比值和分析方法回收率等折算出的每日暴露量（以人体重为基础计算，单位 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重）。

3.10 估计每日摄入量 (Estimated Daily Intake, EDI)

指食品动物按推荐给药方案用药后，根据可食性组织中残留标志物实测残留浓度中值、食物消费系数、残留标志物浓度与总残留浓度比值和分析方法回收率等折算出的每日暴露量（以人体重为基础计算，单位 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重）。

4 完全制定程序

对于创新型兽药品种和国际上未制定ADI的兽药品种，MRLs的制定需要开展两方面的研究。一是系统的毒理学评价，包括基础毒理学及其他与药物特性相关的特殊毒性研究，获得基于毒理学终点的每日允许摄入量（tADI）。对于抗菌药物，必要时还需要开展微生物学安全性研究，评价残留对人体肠道菌群的影响，获得基于微生物学终点的每日允许摄入量（mADI）。二是残留的化学特性评价。主要是采用放射性示踪方法研究兽药在实验动物体内外的代谢差异和体内代谢、分布与消除特征，确定主要代谢物与残留标志物、残留靶组织等残留监控靶标。最终，结合毒理学研究结果和化学特性研究结果，制订MRLs。.....

4.1 毒理学/微生物安全性评价

4.1.1 毒理学评价

参考食品安全性毒理学评价程序（GB15193.1-2014），系统开展受试药物在实验动物的急性毒性、亚慢性毒性、慢性毒性、繁殖与发育毒性、遗传毒性及其他与药物特性相关的特殊毒性，获得各项毒性试验的最大无作用剂量（NOAEL），选择其中最小的NOAEL作为最终的NOAEL。根据公式（1）计算tADI。其中安全因子的设定主要是考虑到动物种属间和种属内可能存在的毒性差异，其数值可以根据药物毒理学评价的实际情况，综合权衡后设定。通常情况下，如果NOAEL来源于长期毒性试验，安全因子取100。如果NOAEL来源于亚慢性毒性试验，安全因子取1000。

$$tADI = \frac{NOAEL}{\text{安全因子}} \quad (1)$$

4.1.2 微生物安全性评价

对于抗菌药物，首先需要评价药物及其主要残留物是否可以到达消费者结肠并保持活性，同时还要判断药物及其主要残留物是否会影响消费者肠道细菌。根据评价结果判断是否有必要测定 mADI。建立 mADI 时应考虑的微生物学终点为：（1）对肠道定植屏障的破坏作用，和/或（2）导致肠道耐药菌群的增加。通常采用最小抑菌浓度测定试验、粪便悬液、分批培养、半连续培养和连续培养试验等体外测试系统或人类菌群相关（HFA）和常规实验动物体内试验系统评估药物对肠道定植屏障的影响。同时通过体内外试验考察药物对耐药细菌数量的变化。根据不同测试系统的要求计算 mADI。

4.1.3 ADI 的确定与分配

依据毒理学评价和微生物学评价结果来确定 ADI 值。通常情况下，毒理学 ADI 值适用于所有批准用于食品动物使用的药物，微生物学 ADI 值仅适用于批准用于食品动物且有微生物学风险的抗菌药物。大多数药物一般选用 tADI 作为受试物的最终 ADI。如果同时获得抗菌药物 tADI 和 mADI 值，则应比较两者大小，选择较小者作为最终的 ADI。

ADI 的分配需考虑药物批准使用的对象。如果药物仅批准用于肉用畜禽，则只考虑将 ADI 按消费比例全部分配给可食性组织（肌肉、脂肪、肝和肾）；如果药物同时批准用于肉用畜禽和奶牛和/或奶羊，则 50% ADI 分配给奶，其余 50% ADI 按比例分配给肉用畜禽的可食性组织。如果药物同时批准用于蛋禽，则 20% ADI 分配给禽蛋，其余按比例分配给其他可食性组织和/或奶；如果药物还批准用于蜜蜂，则 20% ADI 分配给蜂蜜，其余按比例分配给其他可食性组织和/或奶、禽蛋；如果药物仅批准用于水产动物，则 ADI 值全部分配给鱼肉。

4.1.4 安全浓度的确定

安全浓度（Safety Concentration, SC）是动物性食品中允许残留的所有与药物相关的总残留浓度。每种动物性食品中的 SC 计算方法如下：

$$\text{安全浓度(SC)} = \frac{ADI \times 60\text{kg b.w.}}{\text{食物消费系数}}$$

鉴于我国卫生部公布的居民膳食结构数据多数低于 WHO 推荐的数据，为安全起见，在制定 MRLs 时采取 WHO 推荐的食物消费系数。具体如下：一个 60 公斤体重的人，一天动物性食物消费量：哺乳动物或禽肉 500g（其中：肌肉 300g，肝脏 100g，肾脏 50g，脂肪 50g）；或者鱼肉 300g。另加奶 1500g，鸡蛋 100g，蜂蜜 50g。

对于注射位点肌肉中的安全浓度，通常情况下要求控制在10倍正常肌肉组织中安全浓度以内，如果能获得急性参考剂量(Acute Reference Dose, ARfD)，可按公式(4)计算注射位点安全浓度。

$$\text{安全浓度(SC)} = \frac{\text{ARfD} \times 60\text{kg b.w.}}{\text{肌肉消费系数}}$$

4.2 残留物化学特性评价

残留物化学特性评价主要目的是要评估食品动物用药后组织中残留物的数量和性状，通过开展总残留研究、比较代谢研究与残留消除试验，阐明药物在动物体内的物料平衡、代谢、分布和残留消除特征，发现代谢物组成与结构特征，揭示总残留分布与消除规律、确定主要代谢物和残留标示物及其与总残留的比例。

4.2.1 总残留研究

总残留研究主要目的是揭示食品动物用药后不同时间各组织中残留物的数量与性质，包括药物在食品动物各种组织中的总残留的分布与消除规律、代谢产物组成、结构、分布与消除特征，最终根据残留物的含量、特性及消除特征，确定主要代谢物和残留标志物及其与总残留的比例。一般认为，零休药期时药物浓度大于100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ ，或占总残留量10%以上的代谢物均被认为是主要代谢物，必要时需要进行单独的毒理学评价。在某些特定情况下，占总残留物不足10%的代谢产物也需考虑进行毒理学评价。此项研究通常要求用放射性标记药物开展。

4.2.2 比较代谢研究

比较代谢试验的目的是比较毒理学试验用实验动物的代谢产物与食用动物可食组织中的残留物是否一致，以确定消费者从动物性食品中摄入的残留物安全性是否在实验动物毒理学评价中得到了充分评估。

通常可通过开展体外代谢试验(如肝细胞、肝微粒体)或体内代谢试验分析实验动物的代谢物与食品动物的代谢物的异同，以证明相关实验动物产生的代谢物是靶食用动物可食组织中发现的残留物。此项研究一般要求使用放射性标记药物完成，以便能够监测所有与药物相关的代谢产物，应重点监测主要代谢产物的定性信息。当通过化学方法很容易在实验动物的尿液或组织中鉴别出食品动物产生的残留代谢物时，可采用替代方法(即不使用放射性标记药物)表征实验动物中的代谢物。

4.2.3 残留消除试验

残留消除试验的目的是研究食品动物按临床推荐给药方案用药后，残留标志物在动物性产品中消除至最高残留限量以下的过程，为休药期或弃奶/蛋期的制定提供依据。此项研究参考农

业农村部发布的部评审化（2020）138号中《兽药残留消除试验指导原则》等有关规定执行。

4.3 MRLs的制定

4.3.1 基于毒理学 ADI 制定 MRL_T

MRLs 的制定需要综合考虑多方面因素，其中关键因素包括毒理学试验结果、放射性示踪研究结果和实际生产条件下的残留消除试验结果。其他因素包括靶组织与残留标志物的确定、残留分析方法的建立等。推荐 MRL 的主要考虑因素是建立 ADI（基于可用的毒理学数据或微生物学数据）。通常情况下，可基于 ADI 和理论食物消耗系数制定 MRLs（公式 5）。

$$MRL_T = SC \times M:T(\%) \times Re(\%) \quad (5)$$

式中， MRL_T 指基于毒理学制定 MRLs；SC 指动物性食品中的安全浓度；M:T 指动物性食品中残留标志物与总残留的比值；Re 指动物性食品中残留分析方法回收率。

为了确保推荐的 MRLs 可以充分保障消费者安全，按如下方法计算理论最大每日摄入量（TMDI），验证 MRLs 的合理性显著超过 ADI。如果制定的 MRLs 可以确保 TMDI 低于 ADI，则可接受该 MRLs。否则需要重新调整 MRLs。

$$TMDI = \sum MRL_T \times \text{食物消费系数} / M:T \quad (6)$$

4.3.2 基于残留消除试验制定 MRL_u

基于 ADI 和理论食物消费系数制定的 MRL_T 是制定 MRLs 的上限考虑因素。同时还要考虑实际规范生产用药条件下食品动物组织中的实际残留浓度是否低于 MRL_T 。通常需要开展实际生产用药条件下的残留消除试验，根据不同时间点动物性组织中残留标志物的残留中值计算 MRL_u ，同时依据该残留中值核算估计每日摄入量（EDI）。对于已经确定残留标示物的药物，EDI 的计算方法如下为：

$$EDI = \sum \left(FC_i \times MRC_i \div \frac{MR_i}{TR_i} \right)$$

式中，

FC_i (kg)：指每种动物性食品的日消费量；

MRC_i (kg)：指各动物性食品中残留标志物的残留浓度中位值；

TR_i ：指各动物性食品中的总残留浓度；

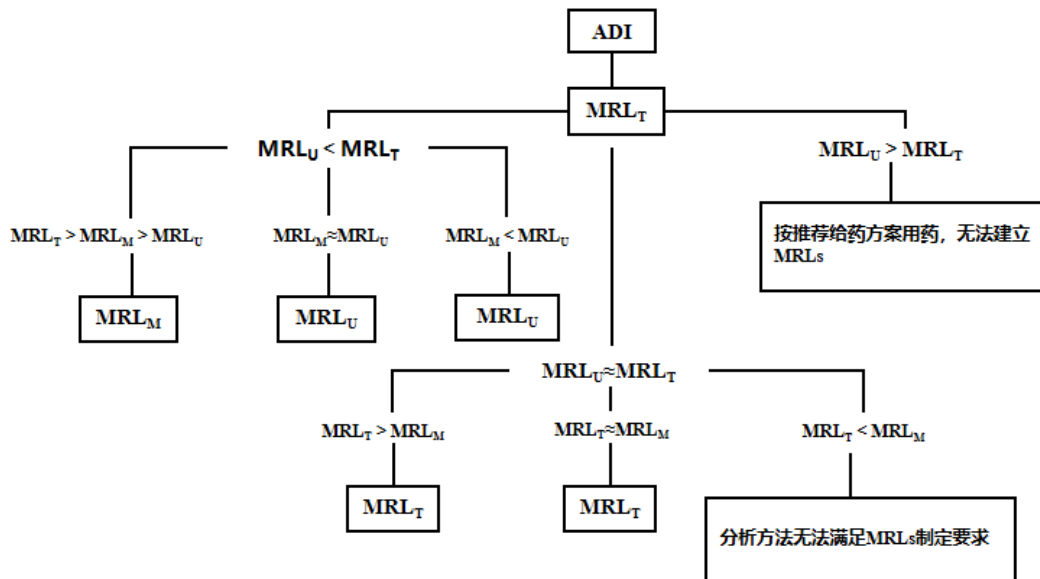
MR_i ：指各动物性食品中残留标示物的浓度。

如果 EDI 低于 ADI， MRL_u 是可以接受的，否则，应重新确定 MRL_u 。根据药物批准使用的动物不同，EDI 的估算评价如下：如果药物同时批准用于肉牛、肉羊、猪和肉鸡，则 EDI （肌肉+脂肪+肝+肾）< ADI；如果药物还批准用于奶牛和/或奶羊，则 EDI （肌肉+脂肪+肝+肾+奶）< ADI；如

果药物还批准用于蛋禽，则EDI（肌肉+脂肪+肝+肾+蛋）<ADI；如果药物同时批准以上所涉及的动物，则EDI（肌肉+脂肪+肝+肾+奶+蛋+蜂蜜）<ADI。如果药物仅批准用于水产动物，则EDI（肌肉）<ADI。

4.3.4 最终MRLs的确定

最终 MRLs 的制定需要综合考虑 MRL_U 、 MRL_T 和残留分析方法灵敏度（定义为 MRL_M ），比较三者之间的数值，遵循最小化食品安全风险的原则确定最终 MRLs。如果 MRL_U 高于 MRL_T ，说明基于毒理学制定的 MRLs 无法保障实际用药条件下的食品安全性，需要调整药物剂型、处方、休药期或临床给药方案。如果 MRL_U 低于 MRL_T ，则应考虑推荐 MRL_U 作为最终 MRL，但必须确保残留分析方法的灵敏度应低于 MRL_U 。



MRL_T : 基于毒理学制定MRLs; MRL_U : 基于残留消除试验制定MRLs; MRL_M : 基于分析方法灵敏度设定的MRLs。

图1 动物性食品中兽药MRLs制定决策树

ADI 值已经确定，且残留研究数据充分时，按照上述方法提出动物性食品中药物的 MRLs 推荐值。当 ADI 值已经确定，但残留数据不充分或缺乏分析方法资料时，或者 ADI 值是临时值时，可以建议使用临时 MRL。

5 简易制定程序

对已经确定ADI值的兽药，并且已批准一种靶动物MRLs的兽药，如果可以证明在其他靶动物不发生代谢或与已有靶动物代谢性质一致，或有在其它动物的放射标记代谢研究结果报道时，可以用非放射标记药物开展代谢和残留消除试验。采用液相色谱-质谱联用技术，通过标准品对

特定品种中药物及主要代谢物进行定性定量分析，验证药物代谢特点与方式是否与在有关动物的已知代谢方式类似，以及残留标志物是否相同。有关试验指导原则见附录A。

如果非放射性标记靶动物代谢试验证明：药物的代谢与在其它靶动物的已知代谢行为（代谢方式、主要代谢物组成与结构、靶组织和残留标志物）相似，可参考4.3方法制定特定动物品种中各种组织和蛋/奶的MRLs。如果非放射性标记靶动物代谢试验证明药物的代谢与在有关动物的已知代谢行为（代谢方式、主要代谢物组成与结构、靶组织和残留标志物）不同，则应采用放射性标记药物开展系统的靶动物代谢与残留消除试验后再建立MRLs。

6 其他

对于水产动物，制定鱼的MRL时，制定天然带皮鱼肉的MRL，暂不考虑肝、肾等内脏的MRLs；对于其他水产动物，制定可食性组织的MRLs。

对于已经确定ADI值的药物，可以通过简易制定程序进行代谢研究。开展代谢研究时，应设立空白水体作对照，以评价药物的代谢物是环境降解（光分解、水解、微生物分解）还是动物代谢产生。进行靶动物残留标志物消除试验测定鱼肉中残留标志物和总残留量时，应同时测定天然带皮的鱼肉。

对于未确定ADI值的药物和我国自主创新的兽药，则需要先开展毒理学评价建立ADI值，必要时开展微生物学安全性评价，建立mADI，并按照完全制定程序建立MRL。

非放射标记比较代谢与残留消除试验指导原则

A.1 试验目的

确定受试药物在靶动物的代谢是否与在特定动物的已知代谢方式类似，通过代谢物标准品对主要代谢物进行定性定量分析，确定或验证残留标志物。

A.2 适用范围

适用于CAC或其他国家/国际组织已推荐ADI值但还没有建立MRL，且已开展了在特定靶动物体内的代谢研究，明确了在特定动物体内残留标志物的已批准使用兽药，可按简易制定程序建立在新靶动物可食性组织的MRL。

A.3 试验设计

A.3.1 靶动物比较代谢试验

受试动物按推荐给药途径给予非放射标记药物后，采用液相色谱-质谱联用技术，对受试品种血液和排泄物（若药物存在胆汁分泌，还需分析胆汁）中药物原形及主要代谢物（可获取标准品）进行定性定量分析，验证受试药物在受试动物体内代谢特点及方式是否与在特定动物体内已知代谢方式相同或类似，主要代谢物组成及含量是否存在显著差异，同时统计分析排泄物中原形与主要代谢物回收量，验证物料平衡。

A.3.1.1 药物

受试药物应能代表拟用于商业处方的活性成分，使用的制剂与市售产品可以不完全相同。应描述原料药的化学特性（包括通用名、化学名、CAS编号、结构、立体化学和分子量等）和纯度，以及药物处方、剂量配制方法和治疗期间制剂中药物的稳定性。

A.3.1.2 标准品

应提供原型药物标准品。如果可能，还应提供已知或预期存在的代谢物的标准品，用于药物代谢物的色谱比较。必要时，可从已知食品动物体内代谢生成的生物样品中分离代谢产物。

A.3.1.3 动物

受试动物应健康且未接受过药物治疗，且能够代表商业品种和目标种群。试验

前均应有适应期（一般7-10天）。

应提供动物来源、体重、健康状况、年龄和性别，通常情况下，猪：约40-80 kg；绵羊：约40-60 kg；肉/奶牛约250-400 kg；一般情况下，成年牛和绵羊的代谢研究结果可分别外推至小牛和羔羊。但如果充分证据显示未成年动物(反刍前)的代谢与成年动物存在显著差异，则对于反刍前动物需要开展单独研究。

通常每种性别使用4只动物（但可使用更少动物），以确保有足够的样本材料。通常不需要在每种性别中进行比较代谢证明，当代谢率可能存在性别差异时，可以合并样品（不考虑性别），以增加目标代谢物发现和鉴定的可能性。

A.3.1.4 给药

应口服给药，可通过灌胃或推注给药确保动物接受完整剂量，同时最小化养殖环境影响。给药剂量应足够高，可使用接近最小毒性剂量的剂量（也可使用较低剂量），以确保在排泄物或组织中产生高浓度的目标代谢物。应每日给药一次，给药时间应足以使药物发生所有相关代谢，包括与酶诱导相关代谢。通常可连续给药5天，除非有数据显示更长的给药时间可以更好地证明目标代谢物的形成。

A.3.1.5 样品采集

在末次给药后6-12小时内单一时间点处死动物。由于连续给药数天，可检出母体药物随时间依次代谢生成的代谢物，故无需设定不同处死时间点。动物处死前，采集尿液、粪便和血液进行分析。处死后采集肝、肾、胆汁、肌肉、脂肪或其他组织。所有样品应立即分析或冷冻储存（除非冷冻会引起目标代谢物的稳定性问题）直至分析。应从每只动物中采集足够的每种类型组织进行定性分析，或将多只动物样品合并进行定性分析。从给药开始，每天收集所有动物排泄物，定量分析排泄物中药物原形及相关代谢物含量。

A.3.1.6 样品分析

分析方法研究：应提供分析方法的完整描述，包括标准品、试剂、溶液、仪器等；血液、排泄物和组织等分析样品的制备及提取、净化方法；方法学验证数据，以证明方法的灵敏度、准确度与精密度。具体方法与要求参考《生物样品定量分析方法验证技术指导原则》或《兽药残留消除试验指导原则》。

代谢物分离和鉴定：利用薄层色谱法、高效液相色谱法、气相色谱法和质谱法分离鉴定样品中原形及相关代谢物。使用多种技术组合开展主要代谢物的表征和结

构鉴定，包括与标准品的色谱比较或质谱法。主要代谢物是指含量 $\geq 100 \mu\text{g}/\text{kg}$ 或在零休药期（或达到稳态后或连续使用制剂治疗结束时或接近结束时）采集的样本中 $\geq 10\%$ 的总残留量（原形和所有代谢物的总量）。

A.3.1.7 结果分析

分析比较受试动物血液、排泄物和组织中药物代谢方式、代谢特点及代谢物数量、组成（结构）与已知食品动物体内代谢方式及代谢物的差异，确定主要代谢物的组成与结构。

统计药物原形及代谢物在排泄物中的回收量，确定原形和已知代谢物的回收总量，原则上达到60%以上（考虑到水产动物各方面的损失，可以略低），可认为受试药物在受试动物体内主要代谢物均被有效识别，可进一步开展残留消除试验验证残留标志物与靶组织。否则，说明受试动物体内主要代谢物可能存在遗漏，建议采用放射性示踪方法开展完整靶动物代谢与总残留消除试验。

A.3.2 残留消除试验

受试动物按临床推荐给药途径与给药方案给予药物制剂后，采用液相色谱-质谱联用技术，对受试动物可食性组织中药物原形及主要代谢物（可取获取标准品）进行定量分析，揭示药物原形和主要代谢物在可食性组织中的消除特征，确定残留标志物及其在所有可检出残留物中的相对比例，结合ADI和分析方法学研究结果，制定受试药物在受试动物可食性组织中的最大残留限量。

具体试验设计参照《兽药残留消除试验指导原则》执行。不同之处在于，需要建立能同时测定可食性组织中原形和所有主要代谢物的定量分析方法，并提供方法学验证数据。实样检测时，同时检测原形和所有代谢物，定量分析不同采样点所有检测对象在各可食性组织中的残留量，并绘制残留消除曲线，计算各组织中所有检测对象的消除半衰期，确定受试产品在受试动物体内的残留标志物与靶组织，并与已知特定动物残留标志物与靶组织进行比较。若与已知残留标志物相同，则可根据残留标志物在所有可检出残留物中的相对比例，结合ADI和分析方法学研究结果，制定受试药物在受试动物可食性组织中的最大残留限量。否则，需采用放射性示踪法开展完整的靶动物代谢与总残留研究，重新确定残留标志物。