

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.12.11

浅析产蛋鸡用药物零日弃蛋期的制定

徐倩, 杨大伟, 刘艳华, 梁先明, 董义春, 苏富琴*

(中国兽医药品监察所, 北京 100081)

[收稿日期] 2020-09-11 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 12-0066-05 [中图分类号] S859.79

[摘要] 概述产蛋鸡(蛋鸡、种鸡及后备母鸡)用药物弃蛋期的制定考虑因素。根据欧盟 EMA 发布的欧盟最大残留限量制定指南、残留消除指南以及 FDA 发布的食品动物用新兽药对人类食品安全性评价的一般原则, 结合已经批准的部分零日弃蛋期药物, 浅析弃蛋期制定的方法和一般考虑。制定产蛋鸡用药物弃蛋期需要考虑最大残留限量、ADI 合理分配、鸡蛋中药物的残留消除, 其中最重要的因素是 ADI 合理分配。

[关键词] 产蛋鸡用药物; 最大残留限量; ADI 合理分配; 零日弃蛋期

Analysis on Establishment of the Zero – Egg Withdrawal Period for Veterinary Medicine Used in Laying Hens

XU Qian, YANG Da – wei, LIU Yan – hua, LIANG Xian – ming, DONG Yi – chun, SU Fu – qin*

(China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China)

Corresponding author: SU Fu – qin, E – mail: qinginsu123@163.com

Abstract: To summarize the factors affecting the egg withdrawal period establishment of veterinary medicine used in laying hens (layers, breeders and pullets). The methodological principles for the risk management recommendations referred to in Article 7 of Regulation (EC) No 470/2009 and residue depletion studies which released by EU, and General Principles for Evaluating the Human Food Safety of New Animal Drugs Used in Food – Producing Animals which released by FDA are included. The methods and factors for egg withdrawal period establishment are reviewed in combination with some approved veterinary medicine with zero – egg withdrawal period. To establish egg withdrawal period should be focused on a set of studies such as maximum residue limits (MRL), ADI rational partition, and egg residue depletion study and so on. ADI rational partition is the key factor.

Key words: veterinary medicine for laying hens; maximum residue limits; zero – egg withdrawal period; ADI rational partition

作者简介: 徐倩, 硕士, 副研究员, 从事兽药注册评审评价方向研究。

通讯作者: 苏富琴。E – mail: qinginsu123@163.com

休药期是食品动物使用兽药治疗疾病后为保证食品安全而制定由停药至屠宰的时间。产蛋鸡(包括蛋鸡、种鸡及后备母鸡)用药物除靶组织休药期外还应考虑弃蛋期。由于蛋黄的形成时间约为 12 日,且不同时期的蛋黄形成是套叠过程,因此弃蛋期不为零日的药物无法合理执行弃蛋,这使得只有零日弃蛋期的药物才会获得批准用于产蛋鸡。国际上获得批准的产蛋鸡用药物屈指可数^[1](表 1),且部分获批药物因为其他安全性问题撤市,如含二氟沙星、恩诺沙星的兽药产品。食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量(GB31650)^[2]中蛋有残留标志物及最高残留限量的兽药有:氨丙啉、氨苯

砷酸、洛克沙肿、杆菌肽、黏菌素、溴氰菊酯、红霉素、非班太尔、芬苯达唑、奥芬达唑、氟苯达唑、林可霉素、新霉素、土霉素、金霉素、四环素、哌嗪、大观霉素、泰妙菌素和泰万菌素。然而,有最大残留限量并不意味着零日弃蛋期,本文结合欧盟发布的欧盟最大残留限量(MRL)制定指南(EC470/2009)^[3]、残留消除指南以及 FDA 发布的食品动物用新兽药对人类食品安全性评价的一般原则(FDA-2005-D-0155)^[4],阐述产蛋鸡用药物弃蛋期制定的考虑因素,尤其是 ADI 合理分配,为企业研发产蛋鸡用药物提供参考。

表 1 部分已经获得批准的零日弃蛋期药物

Tab 1 The information of some approved veterinary medicines with zero-withdrawal period

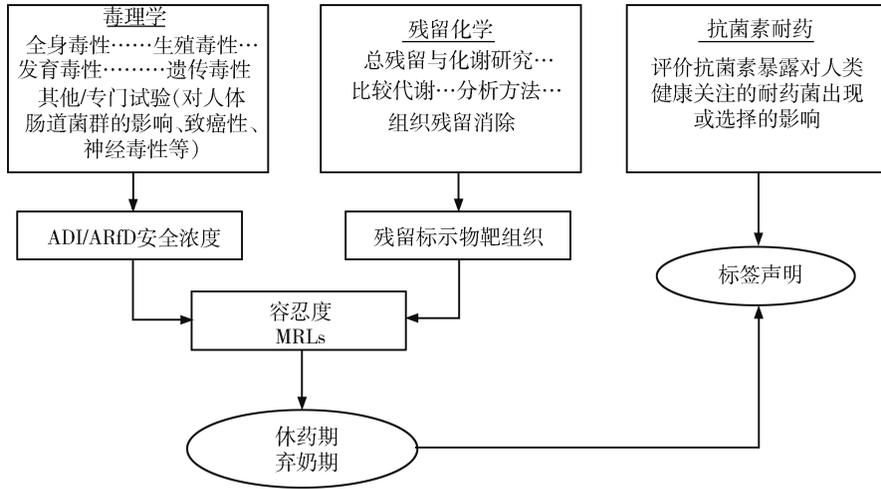
| 兽药名称 | 网址 | 适应症 | 休药期 |
|----------------------------------|--|-------------------------------------|--|
| 氟雷拉纳溶液 (Exzolt®) | www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/exzolt | 治疗蛋鸡、种鸡及后备母鸡的鸡皮刺螨 | 肌肉和内脏:14 日;鸡蛋:0 日 |
| 泰万菌素可溶性粉 (Aivlosin®) | www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/aivlosin | 治疗和控制由鸡毒支原体引起的呼吸系统疾病 | 肌肉和内脏:2 日;鸡蛋:0 日 |
| 芬苯达唑混悬液 (Panacur AquaSol®) | www.ema.europa.eu/en/medicines/veterinary/EPAR/panacur-aquasol | 治疗鸡蛔虫 L5 期幼虫和成虫感染;鸡异刺线虫 L5 期幼虫和成虫感染 | 肌肉和内脏:1 mg/kg 芬苯达唑 6 日;2 mg/kg 芬苯达唑 9 日;鸡蛋:0 日 |
| 硫酸黏菌素内服溶液 (Colfibe®) | www.vmd.defra.gov.uk/ProductInfo | 控制对硫酸黏菌素敏感的非侵袭性大肠杆菌引起的肠内感染。 | 肌肉和内脏:1 日;鸡蛋:0 日 |
| 盐酸氨丙啉溶液 (Amprol®) | www.vmd.defra.gov.uk/ProductInfo | 控制鸡球虫病。 | 肌肉和内脏:0 日;鸡蛋:0 日 |
| 苯氧甲基青霉素可溶性粉 (Phenoxypen WSP®) | ec.europa.eu/health/documents/community-register/html/v044.htm | 控制鸡由产气荚膜梭菌引起的坏死性肠炎。 | 肌肉和内脏:2 日;鸡蛋:0 日 |

1 人类食品安全性评价的通用方法

为确保人类食用治疗动物可食性组织的食品安全,通过危害识别、危害表征、暴露评估对食品动物用兽药进行食品安全性评价。其过程一般包括通过系列毒理药理实验确定日允许摄入量、计算安全浓度、分配容忍度、制定最大残留限量、计算休药期。一般从毒理学、残留化学和微生物学角度评估食品安全(图 1)^[4-5]。鸡蛋作为产蛋鸡的可食性产品,其评价过程与一般评价规则相似,但也有其特点。

2 确定日允许摄入量

日允许摄入量用于预估兽药残留量,指人体终身每日摄入药物而不引起可察觉的危害的最高剂量。根据药物性质,ADI 分毒理学 ADI 和微生物学 ADI。毒理学 ADI 是基于毒理学终点的一套标准研究,包括急性毒性试验、亚慢性毒性试验、长期毒性试验、繁殖毒性试验、发育毒性试验、遗传毒性试验、致癌性试验,得出最保守的最大无作用剂量(NOEL)/无可见不良反应剂量(NOAE)/基准剂量单侧置信限下限值(BMDL)^[4-5],除以安全系数等于兽药总残留的毒理学 ADI,安全系数一般为



注:虚线表示该部分适用于具有抗菌活性的新兽药。ADI 是指日允许摄入量。ARfD 是指急性参考剂量。

图 1 人类食品安全性评价通用方法的流程图

Fig 1 Flow diagram illustrating the general approach for the human food safety evaluation

100,即人群变异系数(10)×物种间外推(10)。ADI旨在评价人类间歇性和长期暴露于相对低浓度的兽药残留物的口服毒性。对于抗菌药物,确定抗菌药残留物是否能够到达人类结肠并保持抗微生物活性,将根据定殖屏障的破坏程度和/或抗菌素耐药菌群的增加幅度这两个微生物学终点分别计算 ADI,其中较小值为微生物学 ADI。毒理学 ADI 和微生物学 ADI 进行比较,较小值为确定的最终 ADI,如 GB31650 中阿莫西林 ADI 就是微生物学 ADI。特别需要注意的是,只有非致癌物才能制定 ADI。

评价具有在单餐或单日摄取食物后产生急性毒性的小分子兽药和有特定急性毒理学相关的注射部位残留,可采用药理学终点的急性参考剂量(ARfD)。对于“非传统”新兽药,如生物技术衍生的新兽药,包括某些酶、融合蛋白、合成激素和抗体等,可采用科学的替代方法分析毒理学问题。对于性激素类药物,美国食品药品监督管理局兽药中心(FDA-CVM)通常用“允许递增量”方法^[4],而不是 ADI 或容忍度进行评价。FDA 认为,如果消费者食用肉类中所含激素量小于或等于人体每日激素产量的 1%,预期不会产生生理影响。但在我国,农

业农村部公告第 250 号将性激素列为食品动物中禁止使用的药品及其他化合物^[6]。

3 ADI 合理分配(分配容忍度)^[4]

ADI 作为消费者终身每日摄入的物质残留总和,根据新兽药的预期用途和每种组织的食用量(食物篮),将为适用的可食性组织分配 ADI。食物篮为肌肉 300 g、肝脏 100 g、肾脏 50 g、脂肪或皮脂 550 g、奶 1500 mL、蛋 100 g 和蜂蜜 20 g。FDA-CVM 假定一个人每天除了食用全部可食性组织之外,还食用全部牛奶、全部蛋和全部蜂蜜。在产品开发早期,应考虑对 ADI 分配的需求,将一定的 ADI 保留,以满足其他动物物种或可食性组织的预期需求。如果兽药有可能用于植保产品或杀虫剂,也应保留一定比例的 ADI。如果兽药不用于奶牛和产蛋鸡,也可不分配 ADI。ADI 分配时,通常将 20% ADI 分配给蛋。

氟雷拉钠溶液^[7]作为产蛋鸡螨虫的治疗药物研发时,将约 1/3 ADI 分配给可食性组织,27% ADI 分配给鸡蛋,40% ADI 保留,以备将来分配给其他种属靶动物,或分配给牛奶或蜂蜜。泰万菌素可溶性粉^[8]作为治疗蛋鸡支原体病研发时,ADI 分配是基于猪和家禽组织已经单独建立的 MRLs 数据,

每个消费者理论上每日最大摄入量 (TMDI) 约 $61 \mu\text{g}/\text{天}$, 这相当于 ADI 的 49%, 也就是 51% ADI 还未使用。泰万菌素将 51% 储备 ADI 全部分配给蛋鸡, 相当于占用了牛奶和蜂蜜的 ADI, 理由是已经有 4 种大环内脂类抗生素批准用于奶牛, 即替米考星、红霉素、螺旋霉素和泰乐菌素, 这四种抗生素与泰万菌素抗菌谱相同, 因此可以将泰万菌素储备给牛奶的 ADI 分配给蛋鸡使用。蜜蜂最主要的细菌性疾病是美国蜜蜂腐蝓病 (AFB) 和欧洲幼虫腐臭病 (EFB), 推荐土霉素治疗, 如果土霉素耐药, 可以用泰乐菌素。但是抗菌药病不能根治 AFB 和 EFB, 欧盟对待 AFB 和 EFB 的首选处理方法是销毁被感染蜜蜂, 因此也可以将泰万菌素的储备给蜂蜜的 ADI 分配给蛋鸡使用。另外, 泰万菌素也没有被用作杀虫剂或植物保护产品的可能。但是, 蛋鸡全部占满储备 ADI 还是存在现实风险的, 也就是当泰万菌素批准用于奶牛时, 要重新评估是否仍能符合零日弃蛋期。可以探索的是行业达成共识, 当奶牛和蜜蜂有药可用时, 是否可以将部分药物让给最难制定弃蛋期的产蛋鸡使用。

4 计算安全浓度

安全浓度是指人类一生中每天从每种可食性组织中摄入新兽药的总残留量, 且使人类的残留物暴露量不会超过 ADI。每种可食性组织的安全浓度计算反映了上述 ADI 分配。兽药在某种动物性食品和产品中的安全浓度 = $\text{ADI} \times \text{成年人平均体重 } 60 \text{ kg} \div \text{每天消耗的某种动物性食品的量}$ 。注射部位如果未发现特定的急性毒理学问题, 可将肌肉安全浓度乘以系数 10 估算注射部位安全浓度。当发现特定的急性毒理学问题时, 使用 ARfD 计算肌肉注射部位安全浓度, 注射部位安全浓度 = $\text{ARfD} \times \text{成年人平均体重 } 60 \text{ kg} \div \text{每天肌肉的消耗值}$ 。

5 残留化学安全性评价

残留限量就是残留标志物在靶组织中的安全浓度。残留靶组织、残留标志物和 MRL 是通过系列食品动物体内兽药代谢和残留动力学评价研究确定和建立的, 包括靶动物代谢研究 (热试验)、实

验动物和靶动物比较代谢研究 (啮齿和非啮齿类热试验)、确立兽药休药期的残留标志物消除研究、残留消除研究用分析方法学验证。

5.1 靶动物代谢研究和残留消除试验 通过靶动物代谢研究和残留消除试验可以确定靶组织和残留标志物, 研究代谢物谱, 确定残留量并鉴定其性质, 明确药物原形及其代谢产物在组织中的分布和消除规律。鸡蛋要作为单独的靶组织研究, 残留标志物也可能与可食性组织不同。因此, 鸡蛋和鸡可食性组的残留消除试验要分别进行, 测定残留物放射性总残留 (TRR) 浓度、测定残留标志物浓度、计算残留标志物与 TRR 的比值 (MR/TRR)。VICH GL48^[3] 建议进行鸡蛋残留消除研究时, 给药期间和停药至含卵黄发育时间 (约 12 日) 每天收集蛋, 每个时间点采样不能少于 10 枚蛋。FDA 建议连续使用的产蛋鸡用新兽药, 应在药物浓度达稳态后使用 12 日的给药方案, 近似于蛋黄完全发育所需的时间, 从停止治疗前 2 日到停止治疗后 2 日为鸡蛋采样时间点。对于间断给药的产品, 具体问题具体分析。

5.2 实验动物和靶动物比较代谢研究 比较代谢研究可以比较靶动物和实验动物 (啮齿类和非啮齿类) 放射性标记代谢研究结果, 确定在毒性试验中实验动物对靶动物代谢物为“自体暴露”, 以便明确是否需要进行额外的毒理学试验, 如免疫毒性、神经毒性等。

5.3 建立最大残留限量和确定休药期 可以按照联合国粮农组织和世界卫生组织联合专家委员会 (JECFA)、美国食品药品监督管理局兽药评审中心 (FDA-CVM) 和欧洲兽药评审局 (EMA) 方法, 对兽药进行暴露评估, 制定 MRLs。非放射性残留标志物消除研究测定残留标志物 (MR) 在各组织和蛋中的浓度, 乘以分配给各组织和蛋的 ADI 就可以得到各组织残留量。残留量除以食物篮对应的组织消费量就是 MRL, 但此时的 MRL 是放射性总残留物 TRR (热值), 通过 MR/TRR 校正 ($\text{热值} \times \text{MR}/\text{TRR}$) 就得到以残留标志物标示的 MRLs。尽管 FDA-CVM 并未规定制定弃蛋期的计算方法^[4], 由

于弃蛋期与弃奶期的计算方法相似,可参考弃奶期研究方法制定弃蛋期。在确定弃奶期时,FDA - CVM 优先推荐采用达到安全浓度的时间方法(TTSC 法)进行统计学分析,这是因为达到安全浓度的时间不变。如果所有样品浓度均低于 MRL,TTSC 法不适用,建议使用每次挤奶时的安全浓度方法(SCPM 法)进行统计分析。建立 MRL 和制定休药期的方法要符合所采用方法的统计学原则。最后,靶动物每种可食性组织按第 99 百分位的 99% 置信区间在零休药期时刻的每日摄入量(EDI)要低于 ADI 进行验证安全性。

综上所述,弃蛋期的制定与其他可食性组一样,都要基于最保守的系列措施,保证动物性食品安全。如从所有毒理学试验中选择最小的 NOEL 值,毒理学 ADI 和微生物学 ADI 比较后也要选择最小值作为最终 ADI 值。ADI 要做符合容忍度的合理分配,MRL 要通过 MR/TRR 进行校正,每日摄入量要低于 ADI。另外,由于弃蛋期必须为零日,部分药物需要行业达成一致,在奶牛和蜜蜂有足够药物治疗疾病时,把储备 ADI 分配给蛋鸡使用。科学合理使用药物^[9],才能保证产业的健康可持续发展。

参考文献:

- [1] www.ema.europa.eu/en/veterinary-regulatory/marketing-authorisation[EB/OL]. 2020.
- [2] 农业农村部,国家卫生健康委员会,国家市场监督管理总局. 食品安全国家标准食品中兽药最大残留限量(GB31650)[S],2019.
The maximum residue limit of veterinary drugs in food according to national food safety standards(GB31650) [S],2019.
- [3] www.ema.europa.eu/en/veterinary-regulatory[R]. 2018.
- [4] www.fda.gov/AnimalVeterinary/default.htm 或 <https://www.regulations.gov>[R]. 2018.
- [5] 于康震,沈建忠. 食品中抗菌药物残留的化学分析[M]. 北京:中国农业出版社,2017,79-98.
Yu K Z, Shen J Z. Chemical analysis of antimicrobial residues in food[M]. Beijing: Agricultural Press of China, 2017,79-98.
- [6] 中华人民共和国农业农村部公告第 250 号[EB/OL]. 2019.
Announcement No. 250 of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, PRC[EB/OL]. 2019.
- [7] www.ema.europa.eu/Veterinary-medicine-European-public-assessment-report-EPAR-Exzolt[OB/OL]. 2020.
- [8] www.ema.europa.eu/Veterinary-medicine-European-public-assessment-report-EPAR-Aivlosin [OB/OL]. 2020.
- [9] 曾振灵. 抗菌药物在蛋鸡养殖业中的合理应用[J]. 中国动物保健,2019,21(10):1-3.
Zeng Z L. The rational application of antimicrobial agents in laying chicken breeding industry[J]. China Animal Health,2019,21(10):1-3.

(编辑:陈希)