

T/CVDA

团体标准

T/CVDA XXXXX—2025

# 功能性宠物食品有效性评价试验技术规范

Technical Specification for Effectiveness Evaluation Test of Functional Pet Food

(征求意见稿)

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中国兽药协会 发布



目 录

目 录 ..... 1

前 言 ..... 3

1 范围 ..... 4

2 规范性引用文件 ..... 4

3 术语和定义 ..... 4

    3.1 宠物 ..... 5

    3.2 功能性宠物食品 ..... 5

    3.3 宠物保健食品 ..... 5

    3.4 功能声称 ..... 5

    3.5 化学体系实验 ..... 5

    3.6 体外细胞实验 ..... 5

    3.7 动物实验 ..... 5

    3.8 试食试验 ..... 5

4 通用要求与分类 ..... 5

    4.1 通用要求 ..... 5

    4.2 分类 ..... 6

5 受试样品要求 ..... 6

    5.1 受试样品的基本信息 ..... 6

    5.2 受试样品批次要求 ..... 6

    5.3 受试样品的安全性检验报告 ..... 6

    5.4 受试样品需前处理的要求 ..... 6

6 化学体系实验要求 ..... 7

    6.1 评价的基本原则 ..... 7

    6.2 化学体系 ..... 7

    6.3 受试样品与酶溶液配制 ..... 7

    6.4 组别设置 ..... 7

    6.5 受试样品对酶活的影响 ..... 7

7 细胞体系实验要求 ..... 7

    7.1 细胞类型及培养要求 ..... 8

    7.2 受试样品要求 ..... 8

    7.3 实验要求 ..... 8

8 动物实验要求 ..... 9

    8.1 评价的基本原则 ..... 9

    8.2 实验动物 ..... 9

    8.3 组别要求 ..... 9

    8.4 受试样品给予剂量、方式与时间要求 ..... 10

    8.5 测定指标 ..... 10

8.6 结果判定..... 11

9 宠物试食试验要求..... 13

9.1 评价的基本原则..... 13

9.2 基本要求..... 13

9.3 试食试验观测指标的要求..... 14

10 实验报告..... 16

参考文献..... 17

## 前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国兽药协会提出并归口。

本文件起草单位：上海宠幸宠物用品有限公司、卫仕营养科学研究院（江苏）有限公司、江苏大学、中国农业大学动物科技学院、中国质量检验检测科学研究院、青岛市华测检测技术有限公司、芜湖卫仕生物科技有限公司、东西志览国际文化发展无锡有限公司。

本文件主要起草人：马海乐、段玉清、李云亮、陈义强、牛相涛、牛艳艳、严子华、刘淑琴、宋亮亮。

## 1 范围

本标准规定了医研级功能性宠物食品有效性评价实验规范的通用要求与分类、受试样品要求、化学体系实验要求、细胞体系实验要求、动物实验要求、宠物试食试验要求及实验报告要求。

适用范围：本标准适用于声称具有保健功能的宠物保健/功能食品、饲料原料、添加剂、宠物配方食品、零食等形式产品的有效性评价。

本标准涵盖的功能性声称包括以下14种：有助于改善口臭、有助于改善泪痕、有助于化毛球、有助于改善毛发质量、有助于增强免疫力、有助于促进消化、有助于调节肠道菌群、有助于保护肠黏膜、有助于抗氧化型衰老、有助于调节负氮平衡、有助于改善骨密度、有助于改善关节及软骨性能、有助于控制体内脂肪、有助于控制血糖健康水平。

本标准适用于宠物犬、猫。

## 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；凡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。

国际计划 20231642-T-306 实验动物 动物模型鉴定与评价技术规范

GB 16740 保健（功能）食品通用标准

GB 16740-2014 食品安全国家标准 保健食品

GB/T 43051-2023 实验动物 动物实验生物安全通用要求

GB/T 43459-2023 洁净室及受控环境中细胞培养操作技术规范

GB/T 42011-2022 实验动物—福利通则

GB/T 31217-2014 全价宠物食品 猫粮

GB/T 31216-2014 全价宠物食品 犬粮

GB/T 43839-2024 伴侣动物（宠物）用品安全技术要求

GB/T 18823 饲料检测结果判定的允许误差

TYT 5002-2014 运动营养品功效评价程序和方法

SN/T 3899-2014 化妆品体外替代试验良好细胞培养和样品制备规范

HG/T 3935-2007 哺乳类动物细胞培养基

DB21/T 4035-2024 宠物（犬猫）体况评定技术规程

DB21/T 4033-2024 宠物犬发情鉴定技术规程

DB50/T 1671-2024 动物诊疗机构宠物免疫技术规范

DB2201/T 12-2021 宠物犬饲养规范、

保健食品功能检验与评价技术指导原则（2023年版）

保健食品功能检验与评价方法（2023年版）

中华人民共和国农业农村部公告第20号 农业农村部关于宠物饲料管理办法等规范性文件的公告

中华人民共和国农业农村部公告第2045号 饲料添加剂品种目录及修订列表

中华人民共和国农业农村部公告第1773号 饲料原料目录及修订列表

## 3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

### 3.1 宠物 pet

家庭豢养并宠爱的动物。本标准主要指作为伴侣动物的犬和猫。

### 3.2 功能性宠物食品 functional pet food

指具有特定营养保健功能的食品，即适宜于宠物犬、猫食用，具有调节机体功能，不以治疗为目的的食品。功能性食品有时也称为保健品食品。在学术研究领域，采用“功能性食品”这一称谓更科学。

### 3.3 宠物保健食品 pet health food

适用于宠物犬、猫食用，具有调节机体功能，不以治疗疾病为目的，并且对宠物不产生任何急性、亚急性或慢性危害的食品。

### 3.4 功能声称 functional claims

以文字、符号、数字、图形等方式呈现在产品标签上的，明示或暗示产品以补充维生素、矿物质等营养物质为目的，或具有调节机体功能，不以治疗疾病为目的的产品信息说明。

### 3.5 化学体系实验 chemical system experimentation

是指在生物体外的环境或容器中进行的实验，涉及将生物体的组织匀浆、亚细胞组分、酶及生物材料提取物等生物分子移出其原始体内环境，在实验室的容器内适宜反应条件下进行操作的实验。排除体内复杂因素干扰，是一种化学体系快速且可量化的方法。

### 3.6 体外细胞实验 cell system experimentation

是指在生物体外的环境中进行的细胞实验，通常在实验室条件下进行，通过模拟体内环境，研究细胞的生长、分化、转化等生物学过程。这种实验方法提供了可控、可观察的平台，能够排除体内复杂因素的干扰，专注于特定的生物过程。是一种细胞水平快速且可量化的方法。

### 3.7 动物实验 animal experimentation

以实验动物为载体进行检验、测试、评价和研究活动。研究实验动物对实验处理的反应及其发展规律，运用分析方法，获取新知识和解决疑存问题的科学实践。

### 3.8 试食试验 feeding trial

是一项功能学试验，以宠物犬、猫为受试对象，经口服对受试样品进行测试，主要为了试验和评价受试样品的有效性。

## 4 通用要求与分类

### 4.1 通用要求

#### 4.1.1 满足相关宠物食品标准要求

功能性宠物食品中所用原料和添加剂应符合《饲料原料目录》和《饲料添加剂品种目录》及修订列表中可用于宠物食品的原料和饲料添加剂，同时应符合规定的营养标签、保健食品功能的要求，且原料和添加剂应符合相应的卫生标准要求。适用于功能性宠物食品的有效性检验，包括化学体系评价、细胞体系评价、动物学功能评价和宠物试食评价。

#### 4.1.2 其他要求

功能性宠物食品应不以治疗疾病为目的；对宠物不产生任何急性、亚急性和慢性危害。

#### 4.2 分类

按照功能性宠物食品对宠物的特定身体机能的改善或调节作用，将其声称分为以下14种：有助于改善口臭、有助于改善泪痕、有助于化毛球、有助于改善毛发质量、有助于增强免疫力、有助于促进消化、有助于调节肠道菌群、有助于保护肠黏膜、有助于抗氧化型衰老、有助于调节负氮平衡、有助于改善骨密度、有助于支持关节健康水平、有助于控制体内脂肪、有助于控制血糖健康水平。

### 5 受试样品要求

#### 5.1 受试样品的基本信息

应提供受试样品的名称、性状、规格、批号、生产日期、保质期、保存条件、申请单位名称、生产企业名称、配方、生产工艺、质量标准、保健功能以及推荐摄入量等全面的基本信息。

#### 5.2 受试样品批次要求

受试样品为规格化的定型产品，必须保证各类实验所用受试样品均为同一批次产品。

#### 5.3 受试样品的安全性检验报告

应提供受试样品的安全性毒理学评价的相关资料以及卫生学检验报告，受试样品必须是已经通过安全性毒理学评价的，确认为安全的样品。

#### 5.4 受试样品需前处理的要求

##### 5.4.1 对于体外实验的受试样品处理

体外有效性评价实验中，可使用其核心功效成分进行实验，可根据核心功效成分的理化性质选择适宜的提取条件。若无特殊说明的一般采用水浸提法，条件为：常压，温度80-90℃，浸提时间30-60min，水量为受试样品体积的10倍以上，提取2次，将其合并后浓缩至所需浓度，并标明该浓缩液与原料的比例关系。

##### 5.4.2 对于动物实验推荐量较大的固态受试样品处理

超过实验动物的灌胃量、掺入饲料的承受量等情况时，可适当减少受试样品中的非功效成分的含量，对某些推荐用量极大（如饮料等）的受试样品，还可去除部分无安全问题的功效成分（如糖、水等），以满足功能性食品功能评价的需要。

##### 5.4.3 对于动物实验推荐量较大的液态受试样品处理

需要浓缩时，应尽可能选择不破坏其功效成分的方法。一般可选择40-70℃减压或常压蒸发浓缩、冷冻干燥等进行浓缩。浓缩的倍数依具体实验要求而定。如以冲泡形式饮用的受试样品（如袋泡剂），可使用其水提取物进行功能实验，提取的方式应与产品推荐饮用的方式相同。如产品无特殊推荐饮用方式，采用5.4.1的方法处理。



## 6 化学体系实验要求

### 6.1 评价的基本原则

利用组织匀浆、亚细胞组分、酶及生物材料提取物等在生物体外的化学体系内进行实验的模式，是一种快速且可量化的方法。体外实验主要用于快速判定受试样品有效性的有无，可能与动物实验结果无直接相关性，但可为动物实验提供参考，不能代替动物实验。在功能性宠物食品有效性评价实验中化学体系实验不是必做项目，可以根据产品开发和功能有效性评价需求选做。

### 6.2 化学体系

部分受试样品在进行动物实验评价有效性前，可进行化学体系模拟实验。主要针对受试样品在改善口臭、改善泪痕、助消化、调节血脂和血糖水平等 14 种声称中相关的酶类或某种大分子物质，考察受试样品体外对这些酶类物质活性有无激活或者抑制作用。比如助消化声称中的胃蛋白酶和肠胰蛋白酶活性、改善口臭声称中的溶菌酶活性、控制脂肪声称中的脂肪酶活性、控制血糖水平的葡萄糖激酶活性等。

### 6.3 受试样品与酶溶液配制

#### 6.3.1 受试样品

将受试样品配制成母液，根据需要稀释，配制不同浓度梯度。一般情况需设定至少 5-10 个浓度梯度，溶剂为水溶液或者缓冲溶液。首次实验梯度跨度可放大，然后根据初步实验结果调整缩小范围，找到有区别或区别明显的拐点，以达到最佳的实验效果。受试样品母液需密封置于 2-8℃ 的冰箱中冷藏，避免反复冻融；使用前充分摇匀。对于稳定性较差的受试样品（如多酚类、维生素类等），建议现用现配制。

#### 6.3.2 酶类生物大分子

首先根据实验需求选择适当的酶；将选定的酶粉按照说明书推荐的剂量和浓度配制成酶溶液。通常需要将酶粉溶解在一定量的缓冲液中，然后调整至所需浓度，需对酶溶液调整 pH 值，使用 pH 试纸和 pH 计测定溶液的 pH 值，并调整至最适 pH 范围，不同酶的最适 pH 值有所不同。配制好的酶液应储存在密封的容器中，置于 2-8℃ 的冰箱中冷藏，避免反复冻融；使用前充分摇匀，以保证实验结果的准确性。

### 6.4 组别设置

固定酶浓度，按照不同受试样品梯度设置组别数，每个梯度一个组别；同时设置不添加受试样品的空白对照组，如果受试样品为成品，则应增设去核心成分外的所有辅料对照组，排除其他成分对结果的干扰。

### 6.5 受试样品对酶活的影响

将受试样品与酶液加入到同一容器中，混匀、密封，并置于 37℃ 水浴摇床中反应一定时间，当单位时间内酶活力的变化趋于稳定时，停止反应。

## 7 细胞体系实验要求

体外细胞体系实验是利用体外培养的细胞作为对象，用于功效成分筛选、生物学机制及毒性测试的

重要工具，通过合理设计和操作，能够提供可靠的数据，推动宠物功能性食品科学研究和应用开发。可用于评估受试样品的有效性和毒性，研究受试样品的作用机制，如生物过程、信号通路和基因功能调控等；可用于研究宠物疾病机制和预防措施，为宠物的生物学和医学提供基础数据及安全性。细胞体系实验适合于上述 14 种功能声称，用于动物实验和试食试验的参考，可以根据产品开发和功能有效性评价需求选做。

## 7.1 细胞类型及培养要求

### 7.1.1 细胞类型

常用细胞包括宠物的原代细胞、细胞系和干细胞。

### 7.1.2 培养基

每种细胞培养基可能不同，需事先选择合适的培养基并添加必要血清和生长因子以及双抗（青霉素和链霉素）。如粉剂培养基，需配制后过滤除菌，确保无污染方可使用。

## 7.2 受试样品要求

### 7.2.1 受试样品形式

受试样品可以是成品、半成品、核心功效成分、添加剂、原料等，其形态可为液体、粉体、颗粒、乳液等不同形式。

### 7.2.2 受试样品处理

受试样品需进行溶解、稀释、除菌/灭菌等处理，确保适合细胞实验。如受试样品中的辅助成分/辅料对声称实验结果无影响，可通过 5.4 的对应方法处理，提取到核心功效成分，进行细胞实验；如辅助成分/辅料对声称功效有影响，则不应排除或者设置对比实验。

## 7.3 实验要求

### 7.3.1 细胞培养环境

需无菌操作，控制温度、CO<sub>2</sub>浓度和湿度，一般采用 CO<sub>2</sub> 培养箱，犬猫细胞培养一般控制温度 37℃、5%CO<sub>2</sub>，饱和湿度条件下培养。

### 7.3.2 实验设计

设置对照组和受试样品组，确保结果可靠。受试样品组需设置系列梯度，并找到细胞毒剂量；声称中的功效性评价实验需要在无毒剂量范围内测定，且至少设置低、中、高 3 个剂量。其中对照组，不加入受试样品；如受试样品中的辅料或相关载体对实验结果有影响，则应增设载体对照组。

### 7.3.3 检测方法

可根据实验测试目的和指标的不同选用合适的检测方法，常用方法包括 MTT、流式细胞术、Western blot、qPCR 等。

7.3.3.1 细胞增殖实验：一般选用 MTT、CCK-8，评估受试样品对细胞生长的影响。

7.3.3.2 毒性实验：如 LDH 释放，评估受试样品对细胞的毒性。

7.3.3.3 细胞凋亡实验：如 Annexin V/PI 染色，检测受试样品对细胞凋亡的影响。7.3.3.4 细胞周期实验：如 PI 染色，分析受试样品对细胞周期的影响。

7.3.3.5 细胞迁移和侵袭实验：如 Transwell，研究受试样品对细胞迁移和侵袭能力的影响。

7.3.3.6 基因表达实验：如 qPCR、Western blot，检测基因和蛋白表达。信号通路研究：如荧光报告基因，研究基因表达调控等。

## 8 动物实验要求

### 8.1 评价的基本原则

指在实验室内，为了获得有关生物学、医学等方面的新知识或解决具体问题而使用动物进行的科学研究。动物实验要有对照和重复，且动物随机分组；选择与宠物疾病有共性的动物做实验；注意实验动物质量；必须由经过培训的、具备研究学位或专业技术能力的人员进行或在其指导下进行；动物实验结果不能机械地、不经分析地全用于宠物临床。避免宠物受到伤害，更好的为宠物在医疗、科学、生物等方面做出贡献，所有评价实验应进行动物伦理审查，参照 GB/T 35892 实验动物 福利伦理审查指南进行。

### 8.2 实验动物

#### 8.2.1 实验动物要求

实验用动物和动物实验人员资格应符合 GB/T 43051-2023 对实验动物和动物实验人员的通用要求。常用大鼠和小鼠，应使用适用于相应功能评价的动物品系，推荐使用近交系动物。动物的性别、周龄依实验需要进行选择。实验动物的数量要求小鼠每组 10-15 只(单一性别)，大鼠每组 8-12 只(单一性别)。根据各项实验的具体要求，合理选择实验动物：

8.2.1.1 慢性实验或观察实验动物的生长发育，应选择幼龄动物。

8.2.1.2 在老年健康研究中，常选用老龄动物或衰老模型动物。

8.2.1.3 无特殊说明的一般实验，应选用成年的动物。

#### 8.2.2 饲养和实验环境的要求

8.2.2.1 动物及其实验环境，应符合 GB/T 43051-2023 对实验动物及其实验环境的有关规定。

8.2.2.2 动物饲料，应提供饲料生产商等相关资料。如为定制饲料，应提供基础饲料配方、配制方法，并提供动物饲料检验报告。

### 8.3 组别要求

#### 8.3.1 不需要使用模型动物的实验

实验不需要使用模型动物评价受试样品的有效性，则至少设置 4 个组别，分别为正常对照组、受试样品的低、中、高 3 个剂量组。

#### 8.3.2 需要使用模型动物的实验

实验需要使用模型动物来评价受试样品的有效性，则至少设置 5 个组别，分别为正常对照组、模型动物对照组、以及模型动物低、中、高剂量 3 个受试样品组；如实验设置阳性药物对照，还需增加阳性对照组；如以载体和功效成分（或原料）组成的受试样品的实验，当载体本身可能具有相同功能时，在

实验中还应设置该载体作为一个载体对照组。

## 8.4 受试样品给予剂量、方式与时间要求

### 8.4.1 受试样品给予剂量

各种动物实验至少应设 3 个受试样品剂量组，剂量选择应合理，受试样品的功能实验剂量必须在毒理学评价确定的安全剂量范围之内，尽可能找出最低有效剂量，通过毒理学评价可获得受试样品大/小鼠最大耐受量，根据最大耐受量设计大/小鼠的剂量，然后进行 2-3 个剂量的预实验，预实验剂量跨度尽量放大，确定最低和最高有效剂量范围。在 3 个剂量组中，其中一个剂量应相当于宠物犬猫推荐摄入量（折算为每公斤体重的剂量）的 2.5 倍（大鼠）或 5 倍（小鼠），且最高剂量不得超过犬、猫推荐摄入量的 10 倍（特殊情况除外）。

### 8.4.2 给予方式

8.4.2.1 必须经口给予受试样品，首选灌胃。灌胃给予受试物时，应根据试验的特点和受试样品的理化性质选择适合的溶媒（溶剂、助悬剂或乳化剂），将受试物溶解或悬浮于溶媒中，一般可选用蒸馏水、纯净水、食用植物油、食用淀粉、明胶、羧甲基纤维素、蔗糖脂肪酸酯等，如使用其他溶媒应说明理由。所选用的溶媒本身应不产生毒性作用，与受试样品各成分之间不发生化学反应，且保持其稳定性，无特殊刺激性味道或气味。

8.4.2.2 无法灌胃的受试样品，则可加入饮水或掺入饲料中给予，并计算受试样品的给予量；同时，应描述受试物配制方法、给予方式和时间。

### 8.4.3 给予时间要求

受试样品给予时间一般至少 28 天，必要时可延长时间。其中，改善口臭、化毛球、改善泪痕受试样品可不足 28 天，但一般不低于 14 天。

## 8.5 测定指标

在功能性宠物食品有效性评价实验中，有助于改善口臭、改善泪痕、化毛球、改善毛发质量无需进行动物实验。在毒理学安全性评价基础上，可进行宠物试食试验。而增强免疫力、助消化、调节肠道菌群等其他 10 种声称则需要进行动物实验，确保安全性和有效性的前提下，方可进行宠物试食试验。

### 8.5.1 有助于增强免疫力

测定指标，采用正常或免疫功能低下的模型动物进行实验。主要包括体重、胸腺和脾脏重量（胸腺/体重比值、脾脏/体重比值）、细胞免疫功能测定（小鼠脾淋巴细胞转化实验和迟发型变态反应实验）、体液免疫功能测定（抗体生成细胞检测和血清溶血素测定）、单核-巨噬细胞功能测定（小鼠碳廓清实验和小鼠腹腔巨噬细胞吞噬鸡红细胞实验）、NK 细胞活性测定。所列指标均为必做项目。

### 8.5.2 有助于促进消化

测定指标，主要包括体重、摄食量、食物利用率、小肠运动实验、消化酶测定、胃动素和胃泌素含量。

### 8.5.3 有助于调节肠道菌群

测定指标，主要包括体重、有益菌群（双歧杆菌属、乳杆菌属、丁酸球菌属等）和有害菌群（消化梭菌属、产气荚膜梭菌、消化链球菌属等）的数量和比例。

#### 8.5.4 有助于保护肠黏膜

测定指标，炎症模型鼠灌胃受试样品后，测定指标主要包括体重、DAI评分、组织病理学观察、肠黏膜物理/机械屏障分析（D-乳酸、二胺氧化酶/DAO、细菌内毒素/ET）、化学屏障（粪便短链脂肪酸）、生物屏障（粪便的16S rDNA测序获得菌群多样性和结构比例）、免疫屏障（免疫球蛋白sIgA和肠黏膜炎症因子肿瘤坏死因子 $\alpha$ 、白细胞介素-6、白细胞介素-1 $\beta$ 、白细胞介素-10）。

#### 8.5.5 有助于抗氧化型衰老

测定指标，主要包括体重、血液和组织中丙二醛含量、蛋白质氧化羰基产物含量、超氧化物歧化酶（SOD）活力、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活力、过氧化氢酶（CAT）活力、还原型谷胱甘肽（GSH）含量。

#### 8.5.6 有助于改善骨密度

测定指标，①以补钙为主的受试样品，测定指标主要包括体重、股骨重量、股骨骨密度、骨钙和饲料含钙量。②不含钙或不以补钙为主的受试样品，测定指标包括体重、骨钙和骨密度。

#### 8.5.7 有助于改善关节及软骨性能

测定指标，主要包括关节功能（关节肿胀度、红细胞沉降率）、类风湿指标（类风湿因子、C-反应蛋白水平、抗环瓜氨酸肽抗体）、炎症因子（白细胞介素-1 $\beta$ 和白细胞介素-6，基质金属蛋白酶-32、肿瘤坏死因子 $\alpha$ ）。

#### 8.5.8 有助于调节负氮平衡

测定指标，指标主要包括摄入氮量、排出氮量（尿液和粪便）和血浆中游离氨基酸含量的测定。

#### 8.5.9 有助于控制体内脂肪

测定指标，指标主要包括体重和体重增重、摄食量和摄入总热量、体内脂肪含量（睾丸和肾周围脂肪垫）、脂/体比的测定。

#### 8.5.10 有助于控制血糖健康水平

测定指标，胰岛损伤高血糖模型，测定指标包括体重、空腹血糖、糖耐量；胰岛素抵抗糖/脂代谢紊乱模型，测定指标包括体重、空腹血糖、糖耐量、胰岛素、总胆固醇和甘油三酯含量。

### 8.6 结果判定

#### 8.6.1 有助于增强免疫力

在细胞免疫功能、体液免疫功能、单核-巨噬细胞功能、NK细胞活性四个方面任两个方面结果阳性，可判定该受试样品具有有助于增强免疫力作用。其中细胞免疫功能测定项目中的两个实验结果均为阳性，或任一个实验的两个剂量组结果阳性，可判定细胞免疫功能测定结果阳性。体液免疫功能测定项目中的两个实验结果均为阳性，或任一个实验的两个剂量组结果阳性，可判定体液免疫功能测定结果阳性。单核-巨噬细胞功能测定项目中的两个实验结果均为阳性，或任一个实验的两个剂量组结果阳性，可判定

单核-巨噬细胞功能结果阳性。NK细胞活性测定实验的一个以上剂量组结果阳性，可判定NK细胞活性结果阳性。

#### 8.6.2 有助于促进消化

体重和体重增幅、摄食量和食物利用率，小肠运动实验和消化酶测定三方面中任两方面实验结果阳性，可判定该受试样品有助于消化动物实验结果阳性。

#### 8.6.3 有助于调节肠道菌群

①双歧杆菌和/或乳杆菌（或其它益生菌）明显增加，有害菌群无明显变化。②双歧杆菌和/或乳杆菌（或其它益生菌）明显增加，有害菌群减少。③双歧杆菌和/或乳杆菌（或其它益生菌）明显增加，有害菌群比例明显增加，但增加的幅度低于益生菌增加的幅度。符合以上任一项，可判定该受试样品有助于调节肠道菌群动物实验结果阳性。

#### 8.6.4 有助于保护肠黏膜

物理屏障指标中有任两项、化学屏障、免疫屏障和生物屏障中任两项与对照组相比，差异显著（ $p < 0.05$ ），均表明该项结果为阳性。实验组与模型对照组比较，肠黏膜物理屏障、化学、免疫和生物屏障四项中有任两项有明显改善，可判定该受试样品动物实验结果为阳性，可判定该受试样品具有保护肠黏膜作用动物实验结果阳性。

#### 8.6.5 有助于抗氧化型衰老

脂质氧化产物、蛋白质氧化产物、抗氧化酶、抗氧化物质四项指标中三项阳性，可判定该受试样品有助于抗氧化动物实验结果阳性。

#### 8.6.6 有助于改善骨密度

①以补钙为主的受试样品，骨钙含量或骨密度显著高于低钙对照组且不低于相应剂量的碳酸钙对照组，钙的吸收率不低于碳酸钙对照组，可判定该受试样品具有有助于改善骨密度的作用。②不含钙的产品，骨钙含量或骨密度较模型对照组明显增加，且差异有显著性，可判定该受试样品具有有助于改善骨密度的作用。③不以补钙为主（可少量含钙）的产品，骨钙含量或骨密度较模型对照组明显增加，差异有显著性，且不低于相应剂量的碳酸钙对照组，钙的吸收率不低于碳酸钙对照组，可判定该受试样品具有有助于改善骨密度的作用动物实验结果阳性。

#### 8.6.7 有助于改善关节及软骨性能

关节功能任一项、类风湿指标任两项、炎症因子任两项与模型对照组相比，差异显著，可判定该项指标结果为阳性，在关节功能、类风湿指标、炎症因子三项中任两项结果为阳性，可判定该受试样品具有有助于改善关节及软骨性能动物实验结果阳性。

#### 8.6.8 有助于调节负氮平衡

比较实验组与模型对照组之间各指标的差异，差异有显著性（ $P < 0.05$ ），可判定该受试样品具有有助于调节负氮平衡动物实验结果阳性。

#### 8.6.9 有助于控制体内脂肪

受试样品组的体重或体重增幅低于模型对照组，体内脂肪含量或脂/体比低于模型对照组，差异有显著性，摄食量不显著低于模型对照组，可判定该受试样品有助于控制体内脂肪动物实验结果阳性。

#### 8.6.10 有助于控制血糖健康水平

①对于胰岛损伤高血糖模型：空腹血糖和糖耐量两项指标中一项指标阳性，且对正常动物空腹血糖无影响，即可判定该受试样品有助于调节血糖健康水平动物实验结果阳性。②对于胰岛素抵抗糖/脂代谢紊乱模型：空腹血糖和糖耐量两项指标中一项指标阳性，血脂（总胆固醇、甘油三酯）无明显升高，且对正常动物空腹血糖无影响，即可判定该受试样品有助于控制血糖健康水平动物实验结果阳性。

### 9 宠物试食试验要求

#### 9.1 评价的基本原则

“试食试验”是一项功能学试验，以宠物犬、猫为受试对象，经口服对受试样品进行测试，主要为了试验和评价受试样品的有效性。原则上受试样品已经通过动物实验证实（没有适宜动物实验评价方法的除外），确定其具有需验证的某种特定的保健功能；试食试验应在动物功能学实验有效的前提下进行；受试样品必需经过动物毒理学安全性评价，并确认为安全的食品。

#### 9.2 基本要求

受试宠物犬猫的饲养、体况、免疫、发情以及用品等应满足以下标准：DB2201/T 12-2021 宠物犬饲养规范、GB/T 31217-2014 全价宠物食品 猫粮、GB/T 31216-2014 全价宠物食品 犬粮、DB21/T 4035-2024 宠物（犬猫）体况评定技术规程、DB21/T 4033-2024 宠物犬发情鉴定技术规程、DB50/T 1671-2024 动物诊疗机构宠物免疫技术规范、GB/T 43839-2024 伴侣动物（宠物）用品安全技术要求、DB21/T 4034-2024 宠物猫保定技术规程。

##### 9.2.1 试验计划

9.2.1.1 试验前需拟定计划方案及进度，组织有关专家进行论证，并经伦理委员会的要求审核、批准后实施。

9.2.1.2 根据试食试验设计要求、受试样品的性质、期限等，选择一定数量的受试宠物犬和/或猫，设为受试样品的试食组、对照组。试食试验报告中试食组和对照组的有效例数不少于 25 例，且试验的脱离率一般不得超过 20%。

9.2.1.3 开始试食前要根据受试样品性质，估计试食后可能产生的反应，并提出相应的处理措施。

##### 9.2.2 受试犬猫的要求

9.2.2.1 根据受试样品所需判定功能的要求选择适用的试验宠物。

9.2.2.2 试食宠物应该按照品种、遗传背景相同、年龄、体重相近或症状一致性原则。

9.2.2.3 试验前对试验宠物进行常规的免疫接种、驱虫处理。

9.2.2.4 在受试宠物身上采集各种生物样本应详细记录采集样本的种类、数量、次数、采集方法和采集日期。

9.2.2.5 受试宠物应当符合纳入标准和排除标准要求，以排除可能干扰试验目的的各种因素。

##### 9.2.3 实施者要求

9.2.3.1 必须由经过培训、具备研究学位或专业技术能力的人员进行或在其指导下进行。

9.2.3.2 进行试食试验的单位应满足试食试验的质量管理体系，并具备处置试食不良反应的部门和能力。

9.2.3.3 与宠物主保持密切联系，指导受试犬猫的日常活动，监督检查受试宠物遵守试验有关规定。

9.2.3.4 在受试犬猫身上采集各种生物样本应详细记录采集样本的种类、数量、次数、采集方法和采集日等信息。

### 9.3 试食试验观测指标的要求

指标要根据受试样品的性质和作用进行观察和测定，应包括一般性指标和功效性指标。

#### 9.3.1 一般性指标

9.3.1.1 在被确定为受试宠物前应进行的常规体检，确定受试宠物是否适合作为受试样品性质和有效性的检验，只有符合者才能进行试食。

9.3.1.2 肉眼主观观察：给予受试样品前和期间，宠物犬猫的发育状态、精神状态、营养状态、进食状况、感觉器官、呼吸系统、消化系统、被毛和皮肤、粪便和尿液等肉眼可见的变化，并做好记录。

9.3.1.3 生理指标（体温、心率、呼吸频率和等），症状和体征。

9.3.1.4 常规的血液学指标（血红蛋白、红细胞和白细胞计数，必要时做白细胞分类），生化指标（转氨酶、血清总蛋白、白蛋白、尿素、肌酐、血脂、血糖等）。

#### 9.3.2 功效性指标

本标准内的功能性宠物食品 14 种声称中每种声称及指标。

9.3.2.1 有助于改善/去除口臭，指标主要包括口腔中挥发性硫化物、牙菌斑、唾液抑菌效果、溶菌酶活性的测定。

9.3.2.2 有助于改善泪痕，指标主要包括泪痕分级、泪液分泌量、泪痕菌落总数、炎症因子分泌量的测定。

9.3.2.3 有助于化毛球，指标主要包括受试宠物排便情况、粪便毛发排出评分、毛发直径、毛发纤维拉断峰值力的测定。

9.3.2.4 改善毛发质量，指标主要包括感官评分、毛发色差值与光泽度、毛发纤维拉断峰值力、毛发长度和细度、毛发密度的测定。

9.3.2.5 有助于增强免疫力，指标主要包括受试宠物体重、血常规（白细胞计数、红细胞计数、血小板计数等指标，初步了解机体的免疫状态）、血液中免疫球蛋白（IgA、IgG、IgM 等，反映免疫系统的功能状态）的测定。

9.3.2.6 有助于促进消化，指标主要包括临床症状观察、胃肠运动试验、血液中胃动素和胃泌素含量的测定。

9.3.2.7 有助于调节肠道菌群，主要包括体重、有益菌群（双歧杆菌属、乳杆菌属、丁酸球菌属等）和有害菌群（消化梭菌属、产气荚膜梭菌、消化链球菌属等）的数量和比例。

9.3.2.8 有助于保护肠黏膜，指标主要包括粪便评分、机械屏障功能分析（包括血液中 D-乳酸、二胺氧化酶/DAO、细菌内毒素/ET）、化学屏障（粪便短链脂肪酸）、生物屏障（粪便的 16S rDNA 测序获得菌群多样性和结构比例）、免疫屏障（血液中抗炎/促炎及趋化因子含量）。

9.3.2.9 有助于抗氧化型衰老，指标主要包括体重、血液中丙二醛含量、蛋白质氧化羰基产物含量、超氧化物歧化酶（SOD）活力、谷胱甘肽过氧化物酶（GSH-Px）活力、过氧化氢酶（CAT）活力、还原型谷胱甘肽（GSH）含量的测定。



9.3.2.10 有助于改善骨密度，指标主要包括体重、血钙和骨钙含量、骨密度的测定。

9.3.2.11 有助于改善宠物关节性能，指标主要包括关节功能（关节活动度评分、关节肿胀度、红细胞沉降率）、类风湿指标（类风湿因子、C-反应蛋白水平）、炎症因子（白细胞介素-1 和白细胞介素-6、基质金属蛋白酶-32、肿瘤坏死因子 $\alpha$ ）。

9.3.2.12 有助于调节负氮平衡，指标主要包括摄入氮量、排出氮量（尿液和粪便）、骨血浆中游离氨基酸的测定。

9.3.2.13 有助于控制体内脂肪，指标主要包括体重、体况评分、触诊、身长、胸围、腰围、臀围、体内脂肪含量。

9.3.2.14 有助于控制血糖健康水平，指标主要包括空腹血糖、餐后 2 小时血糖、糖化血红蛋白(HbA1c)或糖化血清蛋白、总胆固醇和甘油三酯含量的测定。

### 9.3.3 结果判定

9.3.3.1 有助于改善口臭，①口气值：比较试验组自身或试验组与对照组之间的口气值差异，差异有显著性，则实验结果阳性。②牙菌斑：菌斑百分率 $\geq 20\%$ ，口腔卫生状况不佳；③菌斑百分率 $< 20\%$ ，口腔卫生达标；菌斑百分率 $\leq 10\%$ ，口腔卫生改善良好。④抑菌率：评价标准为：抑菌率 $\geq 50\%-90\%$ ，产品有抑菌作用；抑菌率 $\geq 90\%$ ，产品有较强抑菌作用。口腔中挥发性硫化物结果阳性，口水分泌量、牙菌斑百分率和溶菌酶活性三项指标中任两项指标阳性，可判定该受试样品具有改善口臭的作用。

9.3.3.2 有助于改善泪痕，①泪痕评分显著性判定，受试宠物组中计算对应周期中泪痕评分与试验开始时（第 0 周）的泪痕评分差值，以差值 $\geq 1$  分记为显著效果；差值 $\geq 0.5$  分，记为一般效果；差值 $< 0.5$  分，即为无效果。以有显著效果和一般效果的宠物只数除以总试验宠物数得到相应的比例即为宠物泪痕等级评分占比。②泪液分泌量结果判定，比较试验组自身或试验组与对照组之间的差异，差异有显著性，则实验结果阳性。③抑菌结果判定，在抑菌试验中，各次试验的规定时间抑菌率均在 50%-90%之间，可判定产品有抑菌作用；抑菌率 $\geq 90\%$ ，产品有强效抑菌效果。在抗菌试验中，规定时间杀菌率 $\geq 90\%$ ，判定产品有抗菌作用；杀菌率 $\geq 99\%$ ，判定产品有较强抗菌作用。泪痕等级评分、泪液分泌量和菌落总数三项指标中，其中泪痕等级评分为必做项目，泪液分泌量和菌落总数两项指标选其一。泪痕等级评分结果有效，泪液分泌量和菌落总数两项指标其中任一项有效，即可判定该受试样品具有改善泪痕的作用。

9.3.3.3 有助于化毛球，①毛发排出评分显著性判定。受试宠物组中计算对应周期中毛发评分与试验开始时（第 0 周）的毛发评分差值，以差值 $\geq 1$  分记为显著效果；差值 $\geq 0.5$  分，记为一般效果；差值 $< 0.5$  分，记为无效果。以有显著效果和一般效果的宠物只数除以总试验宠物数得到相应的比例即为宠物毛发排出等级评分占比。②排出毛发直径和拉力值结果判定。比较试验组自身或试验组与对照组之间的差异，差异有显著性（ $P < 0.05$ ），则实验结果阳性。毛发排出评分具有显著性差异，毛发直径和拉力值任一项具有显著性差异，判定该产品具有化毛球作用。

9.3.3.4 改善毛发质量，指标主要包括感官评分、毛发色差值与光泽度、毛发纤维拉断峰值力、毛发长度和细度、毛发密度的测定。①毛发感官评分。受试宠物组中计算对应周期中毛发评分与试验开始时（第 0 周）的毛发评分差值，以差值 $\geq 1$  分记为显著效果；差值 $\geq 0.5$  分，记为一般效果；差值 $< 0.5$  分，记为无效果。以有显著效果和一般效果的宠物只数除以总试验宠物数得到相应的比例即为宠物毛发等级评分占比。②毛发色差值与光泽度。比较试验组自身或试验组与对照组之间的差异，有任一项差异显著，则实验结果阳性。③毛发纤维拉断峰值力，比较试验组自身或试验组与对照组之间的差异，则实验结果阳性。④毛发长度、细度、毛发密度，比较试验组自身或试验组与对照组之间的差异，有任一项差异显著，则实验结果阳性。感官评分和毛发色差与光泽度为阳性，③和④的指标任一项为阳性，可判定该产品具有改善毛发质量的作用。

9.3.3.5 有助于增强免疫力，免疫力低下宠物体重、血常规、免疫球蛋白含量恢复正常水平，可判定

该受试样品具有增强免疫力作用。

9.3.3.6 有助于消化，临床症状明显改善，胃/肠运动实验结果阳性，可判定该受试样品具有有助于促进消化的作用。

9.3.3.7 有助于调节肠道菌群，①双歧杆菌和/或乳杆菌（或其它益生菌）明显增加，有害菌群无明显变化。②双歧杆菌和/或乳杆菌（或其它益生菌）明显增加，有害菌群减少。③双歧杆菌和/或乳杆菌（或其它益生菌）明显增加，有害菌群比例明显增加，但增加的幅度低于益生菌增加的幅度。符合以上任一项，符合以上任一项，可判定该受试样品具有有助于调节肠道菌群的作用。

9.3.3.8 有助于保护肠黏膜，物理屏障指标中有任两项、化学屏障、免疫屏障和生物屏障中任两项与对照组相比，差异显著，均表明该项结果为阳性。试食组与对照组比较，物理屏障、化学、免疫和生物屏障四项中有任两项有明显改善，可判定该受试样品结果为阳性，可判定该受试样品具有保护肠黏膜作用。

9.3.3.9 有助于抗氧化型衰老，试食组脂质氧化产物、超氧化物歧化酶、谷胱甘肽过氧化物酶三项指标中两项阳性，且对宠物健康无影响，可判定该受试样品具有有助于抗氧化的作用。

9.3.3.10 有助于改善骨密度，试食组骨钙含量或骨密度较对照组明显增加，且差异有显著性，可判定该受试样品具有有助于改善骨密度的作用。

9.3.3.11 有助于改善宠物关节性能，试食组关节功能任一项、类风湿指标任两项、炎症因子任两项与对照组相比，差异显著，可判定该项指标结果为阳性，在关节功能、类风湿指标、炎症因子三项中任两项结果为阳性，可判定该受试样品具有有助于改善关节性能的作用。

9.3.3.12 有助于调节负氮平衡，比较试验组与对照组之间各指标的差异，差异有显著性，则实验结果阳性。

9.3.3.13 有助于控制体内脂肪，①不替代主粮的有助于控制体内脂肪受试样品：试食组自身比较及试食组与对照组组间比较，体内脂肪含量减少，皮下脂肪四个点中任两个点减少，腰围与臀围之一减少，且差异有显著性，运动耐力不下降，对机体健康无明显损害，并排除膳食及运动对有助于控制体内脂肪作用的影响，可判定该受试样品具有有助于控制体内脂肪的作用。②替代主食的有助于控制体内脂肪受试样品：试食组试验前后自身比较，其体内脂肪含量减少，皮下脂肪四个点中至少有两个点减少，腰围与臀围之一减少，且差异有显著性，运动耐力不下降，情绪不受影响，并排除运动对有助于控制体内脂肪作用的影响，可判定该受试样品具有有助于控制体内脂肪的作用。

9.3.3.14 有助于控制血糖健康水平，空腹血糖、餐后 2 小时血糖、糖化血红蛋白（或糖化血清蛋白）、血脂四项指标均无显著升高，且空腹血糖、餐后 2 小时血糖两项指标中一项指标阳性，对宠物健康无不利影响，可判定该受试样品具有有助于控制血糖健康水平的作用。

## 10 实验报告

实验报告应提供试验获得的所有内容、数据及可视化信息。未纳入统计分析的数据或由于数据缺乏、丢失等无法评价的情况也应报告，并说明在各组别中的平均值及误差。所有试验样品必须留样保存，宠物饲料（食品）留样 $\geq 500\text{g}$ ，液体样品留样量 $\geq 500\text{mL}$ 。

实验报告正文至少应包括：

- a. 实验名称；
- b. 实验目的；
- c. 实验材料，至少包括实验用品、受试样品及处理方法、受试动物（包括宠物）要求；
- d. 实验方法，测试指标和方法；
- e. 结果与分析，根据数据统计结果给出平均值和标准方差、误差值及决定系数，并以可视化的

数据或图和表形式体现；

f. 结论，针对受试样品的实验结果给出判定；

此外，试验过程中涉及的所有原始数据和相关可视化图表均要存档。参考文献

GB 13078-2017 饲料卫生标准

GB/T 18823 饲料检测结果判定的允许误差

GB/T 35892 实验动物 福利伦理审查指南进行

GB 10648-2013/XG1-2020 《饲料标签》国家标准第 1 号修改单

SN/T 2497.7-2010 第 7 部分：小鼠耳肿胀试验

SN/T 2497.9-2010 第 9 部分：血清溶血素测定试验

SN/T 2497.10-2010 第 10 部分：T 淋巴细胞增殖功能测定试验

SN/T 2497.24-2010 第 24 部分：细胞免疫功能体外检测方法

SN/T 2497.25-2010 第 25 部分：体液的免疫功能试验

SN/T 2497.26-2010 第 26 部分：巨噬细胞功能试验

DB21/T 2356-2014 饲料和饲料添加剂使用监督规范

T/SNHFA 008—2020 基于斑马鱼模型的保健食品有助于增强免疫力功能快速评价方法

T/CAB 2001.4-2017 “绿色生物酵素 动物用 第 4 部分：毛皮宠物专用

农业农村部第 20 号公告《宠物饲料管理办法》、《宠物饲料标签规定》

中华人民共和国农业部公告第 1224 号《饲料添加剂安全使用规范》

---

## 参考文献