食 品 法 典 委 员 会

C

联合国粮食及农业组织

世界卫生组织

Viale delle Terme di Caracalla, 00153 Rome, Italy - Tel: (+39) 06 57051 - Fax: (+39) 06 5705 4593 - E-mail: codex@fao.org - www.codexalimentarius.net

议题 4 **CAC/33 CRD/02**

粮农组织/世界卫生组织联合食品标准计划

食品法典委员会

第三十三届会议

2010年7月5－9日，瑞士日内瓦

粮农组织JECFA专题文集9－盐酸莱克多巴胺残留专论增补预发版摘要

背 景

概要和评价包含JECFA对中华人民共和国进行的猪组织莱克多巴胺残留消除研究所作评价的结论和建议，见本文件附件。附件为粮农组织JECFA专题文集9－盐酸莱克多巴胺残留专论增补预发版的摘要。

该项评价是由JECFA第四十届、六十二届和六十六届会议准备、由粮农组织食品和营养文件41/5、41/16和粮农组织JECFA专题文集2分别出版的专论增补。粮农组织JECFA专题文集9预发版可从以下粮农组织JECFA网站获取：http://www.fao.org/ag/agn/agns/jecfa/JECFAMonographs9.pdf。

附件

粮农组织JECFA专题文集9－盐酸莱克多巴胺残留专论增补预发版摘要

概要和评价

背 景

粮农组织JECFA专题文集中关于猪组织莱克多巴胺残留的残留、暴露和研究声明的这一集盐酸莱克多巴胺残留专论增补，由受邀请专家在2010年1月－5月为粮农组织/世卫组织食品添加剂联合专家委员会（简称JECFA）本次电子会议编写。该委员会的任务是，评价中华人民共和国进行的三项猪组织莱克多巴胺残留消除研究，审议该委员会在这方面以前所评估的其他任何相关研究，就这三项新研究所包含的信息是否会对建议莱克多巴胺最大残留限量产生影响提出建议，审议在评价这些研究时所出现的任何其他科学问题。2010年5月收到的另一项研究由于提交太迟而单独进行了审议。

该项要求最初由食典委第三十二届会议提出，食典委曾要求粮农组织和世卫组织审查由中华人民共和国政府进行的对于使用盐酸莱克多巴胺兽药饲料的猪的三项残留研究。关于莱克多巴胺残留消除的这些研究使用了三个不同的猪品种，在武汉、广州和北京三个不同的国家实验室进行。中华人民共和国代表团在食典委第三十二届会议上对于肺、胃、心、大肠、小肠以及提出了最大残留限量的组织（肌肉、肝和脂肪）中，特别是在兽药饲料停用之后的早期时间点的莱克多巴胺残留水平表示关注。

关于猪的三项新残留研究的说明

武汉的研究使用了40头湖北白猪。每天给这些猪喂饲大约每公斤饲料20毫克盐酸莱克多巴胺剂量，喂饲30天。每头猪每天的平均饲料消费为两公斤。在停药后6小时、12小时、1天、2天、3天、5天、7天和九天屠宰。取肌肉、肝、肾、心、肺、胃、大肠和小肠进行检测。肝、肾、肺和小肠的莱克多巴胺残留浓度高于其他组织。肺的残留浓度高于肝和肾，在停药后9天仍能检测到。

北京的研究使用了长白×大约克夏二元杂交猪。每天喂饲每公斤饲料20毫克盐酸莱克多巴胺剂量，喂饲30天。每头猪每天平均饲料消费为2.18公斤。在停药12小时、1天、2天、3天、5天、7天和11天时取喂饲兽药饲料的所有猪的肌肉、肝、肾、心、肺、胃、大肠和小肠样品。在停药后11天提取的除肌肉之外的所有组织中，莱克多巴胺的残留浓度均高于定量限（0.5 $\mu g.kg^{-1}$）。

广州的研究使用了30头小耳花猪。每天给所有这些猪喂饲每公斤饲料大约20毫克盐酸莱克多巴胺剂量，为期30天。每头猪每天的平均饲料消费为1.63公斤。在停药后6小时、12小时、1天、2天、3天和5天屠宰。从所有喂饲兽药饲料的猪提取肌肉、肝、肾、心、肺、胃、大肠和小肠样品。莱克多巴胺的分布表明在猪中有组织选择性，停药12小时时肾的残留浓度最高，肺的残留浓度为第二高，其次是胃、肝、小肠、大肠和肌肉。肺中的莱克多巴胺残留消除缓慢。

2010年5月提交的另一次残留研究

这一次研究使用了25头杜洛克×大白×长白猪。每天给所有这些猪喂饲每公斤饲料含大约20毫克盐酸莱克多巴胺，为期30天。每头猪每天的平均饲料消费为2.61公斤，高于其他三项研究。在停药后6小时、24小时、48小时和72小时屠宰。取样的组织为肌肉、肝、肾、脂肪、肺、心、胃、大肠和小肠。在萃取净化之前使用消化酶和不使用消化酶对组织样品进行检测。采用酶步骤测定的残留浓度都高于不采用酶步骤，但肺组织例外，肺组织残留浓度比率为大约1，即肺组织中的残留大部分为游离莱克多巴胺。关于胃、大肠和小肠组织，比率为1.09至1.20。实验室内部和实验室之间结果的大变异系数表明采用酶步骤时关注脂肪、肾和肝组织的再生性，与另外三项研究中这些组织的残留数据结果一致。采用酶水解步骤检测的所有组织样品的残留水平大致同其他研究一样。没有利用其他三项研究对膳食暴露评估进行直接比较，因为在该次新研究中没有在停药后12小时取样。

新的数据同以前评价的数据相比较

对于这三项新研究同以前的评估研究的比较进行了详细分析，用于建议最大残留限量。用于确定莱克多巴胺残留的研究规程和方法与确定除肝和肾之外的器官组织莱克多巴胺安残留不同。进行了一项综合分析以估计该项新研究采用酶水解步骤检测莱克多巴胺残留与委员会以前评价的研究中所确定的莱克多巴胺残留的关系。以前的评价利用了在没有采用酶水解情况下确定的标记残留与总残留的关系。为此使用了以前审查的莱克多巴胺研究中得到的有关莱克多巴胺代谢物（A、B、C和D代表已知的莱克多巴胺偶联物）的信息。

在该项分析中，肾和肝的游离莱克多巴胺残留与总残留的比率分别为0.318和0.153，如委员会以前评价的研究数据所估计的。根据停药12小时时间点的数据，这三项新研究数据的总残留中最可比标记值估计分别为0.76和0.565。这些估计值是根据以前评价的残留代谢数据得出的。使用12小时时间点是因为只有比较设计相似的研究的结果才能获得可靠结果。这不包括事先在除12小时时间点之外的任何停药时间原始档案中的研究与新研究的比较。这些比率用于估计膳食暴露。

对于残留消除研究的动力数据进行了详细分析。委员会第六十六届会议的结论是，可以集合支持者在委员会第六十二届会议和第六十六届会议上提交的研究数据。关于肝和肾标记残留消除的半对数比例图见图7和图8。该项分析得出了线性回归线和单侧95%这一置信区间在95个百分位（“95/95容许限度”）的上限。这一限度是一般为委员会建议的最大残留限量所选择的值。这些数据与三项新研究结果进行比较。该项分析表明，有时三项研究的结果差异很大，特别是有关短停药期得到的最大残留浓度、消除坡度、各头猪的数据差异和消除阶段数。虽然可以编制可比较残留消除图，但是用重复分析的变异系数衡量的变异表明这三项新研究之间有显著差异。北京的研究重复分析变异系数最低，武汉的研究最高。

这三项新研究的对数变换浓度值用于线性回归分析。该模式为除说明肺组织动力学的数据之外的大多数数据集提供了可接受的适当的线性模式。线性回归参数用于估计“95/95－容许限度”。容许限度与中数残留浓度的比率用来作为这些研究中所使用的畜群的结果变异指标。

广州的研究结果变异最大。可以部分地说明该项变异的因素包括开始时体重，该项研究中的开始时体重大大高于另外两项研究（但是广州的研究没有提供停药时体重，也没有提供一个给药组的饲料摄入信息）；该项研究的体重增长变异也最大。广州的研究饲料/体重增长比率最低。这一结果符合以下情况：广州研究中发现的残留浓度是这三项研究中最低的。

作出了努力按委员会第六十二届会议和第六十六届会议评价的标记残留等值重新计算这三项新研究的部分结果（见表4）。委员会认识到，该项方法有不知道的可能固有的重大不确定性。然而，这种统计有助于着重说明这三项新研究与委员会评价的最初一些研究之间的部分主要差异。只能对肝和肾进行统计，因为其他组织缺乏可比较数据。分析表明，以委员会第六十六届会议上所确定的标记残留表示的肝里的残留浓度与所有研究中中数和“95/95容许限度”相似。但是三项新研究中肾里的残留浓度要高得多。在这些数据中还发现很大变异，正如中数和容许限度之间的差距所表明的。

膳食暴露估计

为了进行膳食摄入评估，武汉的研究是唯一提供委员会所使用的模式膳食的所有组织动力残留数据的研究。此外，在肌肉、肝和肾里发现的残留浓度也是三项新研究中最高的。因此使用武汉研究的数据将得出最高摄入估计数。使用停药12小时后的预计浓度，因为只有这一时间点提供原始档案研究中已经知道的（母体+偶联物）/总残留比例的可比较数据。有充分的资料来补充这个时间点的任何浓度数据或标记/总残留比率。因此停药12小时是所有数据集可以比较的唯一时间点。

对所有数据的综合分析表明，肌肉和脂肪中的总残留浓度与武汉研究中所衡量的母体化合物浓度及标记残留浓度大体相同。因此，在短停药期，肌肉和脂肪中的唯一相关残留为母体莱克多巴胺。因此标记残留与总残留比率的拟议系数为1。关于皮毛，几乎没有什么数据可以估计标记残留与总残留的比例。然而，皮毛中的残留占总摄入量的比率很低。因此在合理范围内选择使用哪个系数关系不大。关于该项估计，委员会使用的系数为1。

关于肝和肾，莱克多巴胺残留代谢信息的相关数据库是委员会第六十二届会议和第六十六届会议评价的ABC－0369这一研究。委员会假设，仅对代谢物A、B、C和D（莱克多巴胺偶联物）进行酶水解以产生莱克多巴胺，对于所有其他余留的内源残留也有相同的毒物学关注。采用这种保守的方法，这些新研究所得出的等同标记残留与总残留的比率为肝0.565和肾0.760（见表4），符合肝1.770和肾1.316的换算系数。

使用上述系数，根据表明最高标记残留浓度新研究及武汉研究以及从原始档案的研究中得到的最保守的换算系数来计算日估计摄入量（使用中数残留浓度）。采用这些换算系数，使用肌肉、肝、肾和脂肪的日估计摄入量为30.8；使用肌肉、肝、肾和皮毛的估计值则为31.2。这两个值都大大低于容许日摄入量的上限（每天60）。

进行了一项仿真模拟来估计这些统计数的可靠性，使用模式膳食和增加肝和肾消费的膳食。模拟80年寿命（即80年29,220天）的模式摄入，假设每天消费300克肌肉、100克肝、50克肾和50克脂肪。得出停药12小时时每个组织对数正态分布任意值，在数字上有根据组织浓度加上或减去4倍残留变异的回归线所预测的值以及同一预测的残留变异。使用武汉研究的数据和正常模式膳食，结果的1.2%-1.8%将超过容许日摄入量，最高结果比容许日摄入量上限高1.5倍。根据中国疾病控制中心所提供的2002年中国营养、膳食和健康状况调查提供的消费数据，如果模式膳食中100克肝和50克肾改为250克肝，分布略微转向摄入值的提高，比容许日摄入量上限高8.3%到8.8%。如果100克肝和50克肾改为200克肾，分布进一步转向摄入值的提高。50.6%到51.7%将超过容许日摄入量的上限。

委员会认识到，肺组织消费是一个特别的问题，在其他残留评价中尚未涉及。尚未有国际上一致的值来估计肺组织的适当消费。此外，也没有什么数据可以得出肺组织莱克多巴胺标记残留浓度与总残留浓度的换算系数。注意到这三项新研究的总体评估中，肺组织中的残留变异较大（广州的研究表明是三项研究中关于单个组织的所有27个数据集中变异最大的）。因此在上述模式试验中，用300克肺取代肝和肾并且采用标记残留与总残留的换算系数为1，武汉研究和北京研究的日估计摄入量超过容许日摄入量的上限。广州研究的日估计摄入量大大低于容许日摄入量的上限。

分析方法

在这三项新研究中所使用的分析方法包括用β－葡萄糖甘酸酶/芳基硫酸酯酶对组织样品进行水解这一步骤。然后用乙酸乙酯－25%氢氧化铵（95－5）萃取水解样品，用固相萃取进行纯化，用液相色谱质谱联用仪检测，使用氘标志（D6）－盐酸莱克多巴胺或三个氘原子标志的莱克多巴胺（D3）作为一项内部标准。这种方法所报告的定量限为0.5 $\mu g.kg^{-1}$；监测限为0.2 $\mu g.kg^{-1}$。对莱克多巴胺残留进行定量的该项检测程序与委员会以前评价中考虑的方法不同，那些方法没有采用酶水解来测定莱克多巴胺残留。

中国的这些研究中所采用的检测方法是适宜的。这种检测方法以以下手段为基础：使用同位素稀释（氘代内标）和液相色谱质谱联用仪（反向分离、电喷雾电离以及在三重四极杆仪器的部分反应监测方式中获取信号），对被监测物进行特性鉴定。然而，在该种方法的最初步骤中出现不确定性，特别是有不同酶来源的第二阶段代谢物早期解离过程及用于恢复水解代谢物的第一个萃取步骤。没有提供关于对酶水解进行验证的数据，结论是这个监测步骤没有得到验证。此外，使用早期解离的条件大不相同。早期解离步骤很可能是这些方法中最关键的阶段，可能导致出现不同结果。此外，普遍的做法是在首次萃取固体基质之后进行水解步骤。此外，原始组织样品通常要么被消化（例如利用一种蛋白酶），要么冷冻干燥和磨碎。在这些研究中，对均质组织直接进行早期解离。酶进入培养基可能受到影响，进行水解的莱克多巴胺偶联物的数量可能减少，然而没有充分的数据验证这一假设。

总之，即使这三项新研究中用于监测残留的不同监测方法有一些缺点，但是注意到所提供的分析数据的质量可以接受；即使三个不同实验室所采用的方法略有不同，三个研究之间的绩效有差异，但是最后的结论是，这个专论所介绍的分析中所使用的所有数据有效。

结论和建议

委员会的结论是，根据所提供的数据，包括中华人民共和国所进行的研究的三个猪品种的数据以及相应的膳食信息，就肌肉、肝、肾和脂肪等猪的组织消费而言，所建议的最大残留限量符合容许日摄入量。日估计摄入量为体重60公斤的人的容许日摄入量上限的大约50%。在委员会采用的模式膳食中肝和肾的替代器官组织数据将得出膳食摄入量人低于容许日摄入量上限这一结果，但是肺组织例外，对于肺组织可能需要考虑采取特别风险管理措施。缺乏关于下水和肺等其他器官组织的国际食物消费数据，应当进一步开展工作来解决这个问题。