

团 体 标 准

T/CEAC XXX—2024

有助于维持尿酸健康水平功能性食品功效 评价方法

Evaluation method for functional food efficacy that helps maintain healthy levels of
uric acid

2024 – XX – XX 发布

2024 – XX – XX 实施

中国商业经济学会 发布

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 试验分类 1

5 动物实验方法 1

6 人体试食试验方法 4

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XXX提出。

本文件由中国商业经济学会归口。

本文件起草单位：XXX。

本文件主要起草人：XXX。

有助于维持尿酸健康水平功能性食品功效评价方法

1 范围

本文件规定了有助于维持尿酸健康水平功能性食品功效评价的试验分类、动物实验、人体试食试验。

本文件适用于有助于维持尿酸健康水平功能性食品功效评价。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 试验分类

4.1 有助于维持尿酸健康水平功效试验分为动物实验和人体试食试验。

4.2 动物实验分为两种模型：

- a) UOX 基因敲除自发高尿酸小鼠模型；
- b) 药物诱导高尿酸小鼠模型。

5 动物实验方法

以受试样品给予自发高尿酸小鼠动物模型或通过实验方法造成的高尿酸动物模型，观察受试样品对高尿酸动物模型的血清尿酸、尿尿酸等指标的影响，评价受试样品对尿酸的调节作用。

5.1 UOX 基因敲除自发高尿酸小鼠模型

5.1.1 原理

鼠、兔等常用作动物模型的哺乳动物体内存在尿酸氧化酶（UOX），UOX可催化体内尿酸氧化成尿囊素或其他物质。UOX基因敲除小鼠可以大幅提高血尿酸水平，尿酸水平稳定，能较好的模拟人类高尿酸状态。

5.1.2 仪器及试剂

全自动生化仪、天平、尿酸测定试剂盒。

5.1.3 动物选择

自发高尿酸小鼠（Uoxem1Cli），Uoxem1Cli宜选用8~12周龄，体重 20 ± 2 g，雌雄可以兼用，每组8~10只。正常动物选择C57BL/6J小鼠。

5.1.4 剂量分组及受试样品给予时间

实验设三个剂量组、一个模型对照组和空白对照组，以人体推荐量的10倍为其中的一个剂组，另设二个剂量组，高剂量一般不超过30倍。同时设给予受试样品高剂量的正常动物组。受试样品给予时间30天，必要时可延长至45天。

5.1.5 实验方法

5.1.5.1 正常动物降尿酸实验

选健康成年动物按血尿酸水平分组，随机选1个对照组和1个剂量组。对照组给予溶剂，剂量组给予高剂量浓度受试样品，连续30天，测血尿酸值，比较两组动物血尿酸值。

5.1.5.2 高尿酸模型动物降尿酸实验

选高尿酸模型动物按血尿酸水平随机分组，设1个模型对照组和3个剂量组（组间血尿酸差不大于30 μmol/L），每组8只。剂量组给予不同浓度受试样品，模型对照组给予溶剂，连续30天，测血尿酸，比较各组动物血尿酸值及血尿酸下降百分率。

5.1.6 观察指标

血尿酸：实验前后，测血尿酸，比较各组动物血尿酸值及血尿酸下降百分率。

$$\text{血尿酸下降率}\% = \frac{(\text{实验前血尿酸值} - \text{实验后血尿酸值})}{\text{实验前血尿酸值}} \times 100\%$$

5.1.7 数据处理

一般采用方差分析，但需按方差分析的程序先进行方差齐性检验，方差齐，计算F值， $F \leq 0.05$ ，结论：各组均数间差异无显著性； $F \geq 0.05$ ， $P \leq 0.05$ ，用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计；对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计；若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。

5.1.8 结果判定

5.1.8.1 正常动物降尿酸试验：

血尿酸指标：受试样品剂量组与对照组比较无统计学意义，判定对正常动物血尿酸无影响。

5.1.8.2 高尿酸模型降尿酸试验：

血尿酸指标：模型成立的前提下，受试样品剂量组与模型对照组比较，血尿酸下降或血尿酸下降百分率升高有统计学意义，判定该受试样品对血尿酸指标结果阳性。

5.1.8.3 动物实验结果判定：血清尿酸指标阳性，且对正常动物血清尿酸无影响，即可判定该受试样品有助于维持尿酸健康水平功效。

5.1.9 注意事项

5.1.9.1 高尿酸动物模型构建：氧嗪酸钾诱导模型小鼠形成的高尿酸血症存在时效性，氧嗪酸钾注射后1.5~2.5h取血，检测血尿酸。

5.1.9.2 高尿酸小鼠模型成立的判定：模型小鼠平均血尿酸是正常小鼠平均值的2倍以上，且与正常小鼠存在显著差异，则判定模型成立。

5.2 药物诱导高尿酸小鼠模型

5.2.1 原理

鼠、兔等常用作动物模型的哺乳动物体内存在尿酸氧化酶（UOX），UOX可催化体内尿酸氧化成尿酸囊素或其他物质。可以通过基因诱导或环境诱导的方法，抑制或者消除尿酸酶的活性建立高尿酸小鼠模型。

氧嗪酸钾是抑制UOX造模的常用药物，其结构与尿酸的嘌呤环相似，可竞争性地与尿酸酶结合，部分抑制尿酸酶的活性，导致尿酸分解减少，造成短时间内体内尿酸蓄积增多，联合高酵母饲料，提高小鼠体内嘌呤含量，增加尿酸的生成。

乙胺丁醇会抑制尿酸经过肾小管排泄，进而造成血液尿酸升高，联合高酵母饲料，提高小鼠体内嘌呤含量，增加尿酸的生成，提高体内血尿酸水平。

5.2.2 仪器及试剂

全自动生化仪、天平、氧嗪酸钾（ $\text{C}_4\text{H}_2\text{KN}_3\text{O}_4$ ，分子量195.17）、羧甲基纤维素钠、乙胺丁醇（ $\text{C}_{10}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_2$ ，分子量204.31）尿酸测定试剂盒。

5.2.3 动物选择

推荐用雄性C57BL/6J小鼠，8~12周龄，体重 20 ± 2 g，每组12~15只。

5.2.4 剂量分组及受试样品给予时间

实验设三个剂量组、一个模型对照组和空白对照组，以人体推荐量的 10 倍为其中的一个剂组，另设二个剂量组，高剂量一般不超过 30 倍。同时设给予受试样品高剂量的正常动物组。受试样品给予时间 15 天，必要时可延长至 30 天。

5.2.5 实验方法

5.2.5.1 正常动物降尿酸实验

选健康成年动物按血尿酸水平分组，随机选1个对照组和1个剂量组。对照组给予溶剂，剂量组给予高剂量浓度受试样品，连续15天，测血尿酸值，比较两组动物血尿酸值。

5.2.5.2 高尿酸模型动物降尿酸实验

5.2.5.2.1 高酵母饲料联合氧嗪酸钾诱导高尿酸小鼠模型

购入成年动物，适应3~5天后，随机取15只动物测血尿酸，作为该批次动物基础血尿酸值。随机分为5各组，即空白对照组，模型对照组和3个剂量组，每组15只。空白对照组不作处理，3个剂量组灌胃给予不同浓度受试样品，模型对照组给予同体积溶剂，连续15天。空白对照组给与维持饲料饲养，模型对照组和3个剂量组给予高酵母饲料，在此基础上，给予模型对照组和3个剂量组氧嗪酸钾250 mg/kg BW 腹腔注射，每日1次，至实验结束。

5.2.5.2.2 氧嗪酸钾联合乙醇丁醇诱导高尿酸小鼠模型

购入成年动物，适应3~5天后，随机取15只动物测血尿酸，作为该批次动物基础血尿酸值。随机分为5各组，即空白对照组，模型对照组和3个剂量组，每组15只。空白对照组不作处理，3个剂量组灌胃给予不同浓度受试样品，模型对照组给予同体积溶剂，连续15天。给予模型对照组和3个剂量组氧嗪酸钾250 mg/kg BW 腹腔注射，同时乙醇丁醇灌胃250 mg/kg BW，每日1次，至实验结束。

5.2.6 观察指标

5.2.6.1 血尿酸：实验前后，测血尿酸，比较各组动物血尿酸值及血尿酸下降百分率。

$$\text{血尿酸下降率} = \frac{(\text{实验前血尿酸值} - \text{实验后血尿酸值})}{\text{实验前血尿酸值}} \times 100\%$$

5.2.6.2 尿尿酸：实验前后，收集 24h 尿，测尿尿酸，计算尿尿酸排泄量，比较各组动物尿尿酸排泄量及尿尿酸排泄量增加百分率。

$$\text{尿尿酸排泄量增加率} = \frac{(\text{实验后尿尿酸排泄量} - \text{实验前尿尿酸排泄量})}{\text{实验前尿尿酸排泄量}} \times 100\%$$

5.2.7 数据处理

一般采用方差分析，但需按方差分析的程序先进行方差齐性检验，方差齐，计算F值， $F < 0.05$ ，结论：各组均数间差异无显著性； $F \geq 0.05$ ， $P \leq 0.05$ ，用多个实验组和一个对照组间均数的两两比较方法进行统计；对非正态或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态或方差齐要求后，用转换后的数据进行统计；若变量转换后仍未达到正态或方差齐的目的，改用秩和检验进行统计。

5.2.8 结果判定

5.2.8.1 正常动物降尿酸试验：血尿酸指标：受试样品剂量组与对照组比较无统计学意义，判定对正常动物血尿酸无影响。

5.2.8.2 高尿酸模型降尿酸试验：

- a) 血尿酸指标：模型成立的前提下，受试样品剂量组与模型对照组比较，血尿酸下降或血尿酸下降百分率升高有统计学意义，判定该受试样品对血尿酸指标结果阳性。
- b) 尿尿酸：模型成立的前提下，受试样品剂量组与模型对照组比较，尿尿酸升高或尿尿酸排泄量增加有统计学意义，则判定该受试样品对尿尿酸指标结果阳性。

5.2.8.3 动物实验结果判定：血清尿酸和尿酸排泄量两项中任一项为阳性，且对正常动物血尿酸无影响，可判定该受试样品具有有助于维持尿酸健康水平功效。

5.2.9 注意事项

5.2.9.1 高尿酸动物模型构建：氧嗪酸钾诱导模型小鼠形成的高尿酸血症存在时效性，氧嗪酸钾注射后 1.5~2.5h 取血，检测血尿酸。

5.2.9.2 高尿酸小鼠模型成立的判定：模型小鼠平均血尿酸是正常小鼠平均值的 2 倍以上，且与正常小鼠存在显著差异，则判定模型成立。

5.2.9.3 尿酸测定方法：采用试剂盒，按说明书操作。

6 人体试食试验方法

6.1 受试者纳入标准

6.1.1 年龄 18~65 岁，不限制性别； $420\ \mu\text{mol/L} \leq \text{血清尿酸水平} < 540\ \mu\text{mol/L}$ （无合并症）或 $420\ \mu\text{mol/L} \leq \text{血清尿酸水平} < 480\ \mu\text{mol/L}$ （有下列合并症之一：高血压、脂代谢异常、糖尿病、肥胖、脑卒中、冠心病、心功能不全、CKD ≥ 2 期）的高尿酸人群。

6.1.2 获得知情同意书，自愿参加试验者

6.2 排除受试者标准

6.2.1 痛风病患者。

6.2.2 年龄在 18 岁以下或 65 岁以上，妊娠或哺乳期妇女，对受试样品过敏者。

6.2.3 有心、肝、肾等主要脏器并发症，或合并有其它严重疾病，精神病患者，服用糖皮质激素类药物、降尿酸药物或其它影响血尿酸药物者。

6.2.4 不能配合饮食控制而影响观察结果者。

6.2.5 近 3 个月内曾参加过其它试食实验或临床试验者。

6.2.6 短期内服用与受试功能有关的物品，影响到对结果的判断者。

6.2.7 凡不符合纳入标准，未按规定服用受试样品，或资料不全影响观察结果者。

6.3 受试样品的剂量和使用方法

根据受试样品推荐量和推荐方法确定。

6.4 试验设计和分组要求

采用组间对照设计。根据随机盲法的要求进行分组。按受试者的血尿酸水平随机分为试食组 and 对照组，尽可能考虑影响结果的主要因素如年龄、性别、饮食等，进行均衡性检验，以保证组间的可比性。每组受试者不少于 50 例。

6.5 观察指标

6.5.1 安全性指标

6.5.1.1 一般状况（包括精神、睡眠、饮食、大小便等）。

6.5.1.2 血、尿、便常规检查。

6.5.1.3 肝、肾功能检查。

6.5.1.4 胸片、心电图、腹部 B 超检查（仅在试验开始前检查一次）。

6.5.2 功效指标

6.5.2.1 血尿酸测量：每 4 周定时测量血尿酸。

6.5.2.2 血尿酸下降幅度计算公式：

$$\text{血尿酸下降百分率} = \frac{\text{试验前血尿酸值} - \text{试验后血尿酸值}}{\text{试验前血尿酸值}} \times 100\%$$

6.5.2.3 24 小时尿酸排泄量测量：实施前后测量 24 小时尿酸排泄量。

6.5.2.4 24 小时尿酸排泄量增加幅度：

$$24\text{小时尿酸排泄量增加百分率} = \frac{\text{试验后24小时尿酸排泄量} - \text{试验前24小时尿酸排泄量}}{\text{试验前24小时尿酸排泄量}} \times 100\%$$

6.5.2.5 晨尿 pH：每周定时测量晨尿 pH。

6.6 试验方法

试验前对每一位受试者按性别、年龄、不同劳动强度、理想体重参照原来生活习惯规定相应的饮食，试食期间坚持饮食控制。试食组在饮食指导的基础上，按推荐服用方法和服用量每日服用受试样品，对照组可服用安慰剂或采用空白对照。受试样品给予时间3个月，必要时可延长至6个月。

6.7 数据处理

凡自身对照资料可以采用配对t检验，两组均数比较采用成组t检验，后者需进行方差齐性检验，对非正态分布或方差不齐的数据进行适当的变量转换，待满足正态方差齐后，用转换的数据进行t检验；若转换数据仍不能满足正态方差齐要求，改用t'检验或秩和检验；方差齐但变异系数太大（如 CV > 50%）的资料应用秩和检验。有效率及总有效率采用 χ^2 检验进行检验。四格表总例数小于40，或总例数等于或大于40但出现理论数等于或小于1时，应改用确切概率法。

6.7.1 结果判定

6.7.1.1 血尿酸

- 试食前后自身比较，血尿酸下降差异有显著性，或试验后平均血尿酸恢复正常或下降幅度 $\geq 10\%$ ；
- 试验后，试食组血尿酸值下降幅度高于对照组，差异有显著性。
- 满足上述 2 个条件，可判定该受试样品血尿酸指标结果阳性。

6.7.1.2 24 小时尿酸排泄量

- 试食前后自身比较，24 小时尿酸排泄量增加差异有显著性，或试验后平均 24 小时尿酸排泄量增加幅度 $\geq 10\%$ ；
- 试验后，试食组 24 小时尿酸排泄量增加幅度高于对照组，差异有显著性；
- 满足上述 2 个条件，可判定该受试样品 24 小时尿酸排泄量结果阳性。

6.7.1.3 晨尿 pH

- 试食后，晨尿 pH 值在 6.2~6.9 之间，或前后自身比较，晨尿 pH 值提高 0.5；
- 试验后，试食组晨尿 pH 在 6.2~6.9 之间的人数高于对照组，差异有显著性；
- 满足上述 2 个条件，可判定该受试样品晨尿 pH 结果阳性。

6.7.1.4 结果判定：

- 血尿酸指标为阳性；
- 24 小时尿酸排泄量和晨尿 pH 两项指标均为阳性；
- 满足上述 2 个条件中任一个，且对机体无不利影响，可判定受试样品具有有助于维持尿酸健康水平的功效。