

## 別項イ

# 給与試験プロトコール(試験要領)

## 1. 要約

ここに示すプロトコールは、ペットフード公正取引協議会が「総合栄養食」表示のために定める給与試験方法であり、その内容はAAFCO(米国飼料検査官協会)1998年版に準拠したものである。犬、猫用フードの栄養的充足性を定められた給与試験により実証することで「総合栄養食」表示に関する条項を満足させようとするものである。

給与試験プロトコールの構成は次の様である。

### (1) ドッグフードが「総合栄養食」であることを証明するためのプロトコール

- [A] 成犬期/維持期又はメンテナンス用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール
- [B] 幼犬期/成長期又はグロース用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール
- [C] 妊娠期/授乳期用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール

### (2) キャットフードが「総合栄養食」であることを証明するためのプロトコール

- [A] 成猫期/維持期又はメンテナンス用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール
- [B] 幼猫期/成長期又はグロース用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール
- [C] 妊娠期/授乳期用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール

いかなるプロトコールにあっても、定められた試験期間中は、供試フードが唯一の栄養源であって、供試犬・猫は、他の栄養源に近づかないようにして飼育されなければならない。

プロトコール	試験期間	供試犬又は猫
成犬期/維持期又はメンテナンス用「総合栄養食」	26週間	1歳、8頭
幼犬期/成長期又はグロース用「総合栄養食」	10週間	離乳子犬、8週令以内 3腹8頭
妊娠期/授乳期用「総合栄養食」	子犬が4週令まで	第2発情期(1歳以上) 8頭
全成長段階又はオールステージ用「総合栄養食」は、上記成長段階の全ての給与試験の評価に合致すること。		
成猫期/維持期又はメンテナンス用「総合栄養食」	26週間	1歳、8頭
幼猫期/成長期又はグロース用「総合栄養食」	10週間	離乳子猫、9週令以内 3腹8頭
妊娠期/授乳期用「総合栄養食」	子猫が6週令まで	第2発情期(1歳以上) 8頭
全成長段階又はオールステージ用「総合栄養食」は、上記成長段階の全ての給与試験の評価に合致すること。		

### 【測定事項】

- ①犬： 毎日のフード摂取量、毎週の体重、身体検査(開始、終了時)、終了時に血液検査(ヘモグロビン、ヘマトクリット、血清アルカリフォスファターゼ、血清アルブミン)
- ②猫： 毎日のフード摂取量、毎週の体重、身体検査(開始、終了時)、終了時に血液検査(ヘモグロビン、ヘマトクリット、血清アルカリフォスファターゼ、血清アルブミン、血液中タウリン)

## 2. ドッグフードが「総合栄養食」であることを証明するためのプロトコール

栄養が充分なものであるということを証明するための必要最小限の試験は、妊娠／乳汁分泌及び発育のプロトコールを用いて行う。これらのプロトコールは、連続して用いなければならない。

従って、栄養的に完全であると記載しようとする製造業者は、発育試験を妊娠／乳汁分泌プロトコールを行った母犬から生まれた、一腹の子犬を使用して実施しなくてはならない。子犬の選択は、妊娠／乳汁分泌プロトコールで、適しているとされた一腹の子犬から、適切な統計的基準で、性分布が等しくなるようにすることが望ましい。

### 【A】成犬期／維持期又はメンテナンス用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール

- (1) 供 試 犬 最小限8頭の犬を用いる。少なくとも1歳以上であり、試験開始時の体重が適正であること。妊娠・授乳中の雌犬は除く。
- (2) 試 験 期 間 この試験は、26週間続けること。
- (3) 給 餌 製造バッチが異なっても同一処方のフードを与えること。水を除いて、試験用フードが唯一の栄養源でなければならない。自由摂取又はエネルギー要求に基づいて給餌する。給餌の中断はその旨を明らかにしておくこと。給餌の中断は試験を無効にすることもあり得る。
- (4) 測 定 項 目
  - ① 毎日のフード摂取量を測定し記録する。
  - ② 体重を、試験開始時、毎週、試験終了時に測定し記録する。
  - ③ ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血清アルカリフォスファターゼ、血清アルブミンを試験終了時に測定し記録する。
  - ④ 供試犬の身体検査を試験開始時と終了時に行う。各犬は健康と評価されなければならない。身体、被毛の状態、コメントを記録すること。

- ⑤ 使用した医薬品を記録し、使用理由も記録すること。
  - ⑥ 供試犬数の25%を越えない範囲で、非栄養的理由、フード低摂取の理由で試験から除くことができる。理由は記録する。フード低摂取の理由で除くことができるのは、試験開始2週間までとする。除去するまでのデータは、最終評価には含ませないが、保存すること。
  - ⑦ 試験期間中に死亡した犬は剖検し、記録する。
- (5) 評価
- A. 供試犬が栄養欠乏又は過剰の臨床的或いは病理的症状を示した場合は試験不合格である。
  - B. 非栄養的理由又はフード低摂取の理由で除いた犬以外の供試犬については、試験は成功のうちに終了しなければならない。
  - C. 供試犬個体毎にみて、試験終了時の体重が開始時体重の15%以上減少してはならない。平均体重は開始時に比較して終了時10%以上減少してはならない。
  - D. 試験終了時の平均ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血清アルブミンの値は、次の値を下回らないこと。  
 ヘモグロビン : 14.0g/dl (個体として 12g/dl)  
 ヘマトクリット : 42% ( " 36%)  
 アルブミン : 2.8g/dl ( " 2.4g/dl)
  - E. 試験終了時の血清アルカリフォスファターゼ値が、平均150 IU/L(個体として300IU/L)以下であること。
- (6) プロトコールの選択
- 成犬期／維持期又はメンテナンス用「総合栄養食」を証明するプロトコールの代わりに、発育試験又は妊娠・授乳試験のプロトコールを用いることもできる。

## 【B】幼犬期／成長期又はグロース用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール

- (1) 供 試 犬 3腹から生まれた少なくとも8頭の子犬を用いる。  
子犬は8週令以内でかつ離乳していること。  
試験開始時には子犬は獣医による健康診断に合格していること。  
試験に当たっては雌雄同数が望ましいが、難しければ適当な修正を加える。対象となる子犬の発育平均を求めるには最少30頭の子犬の成績が必要である。対照区を設定する場合は最少8頭の子犬を用いる。この時、試験区と雌雄同率とする。血統の分布は同一であること。
- (2) 試 験 期 間 試験は最短10週間行うこと。
- (3) 給 餌 製造バッチが異なっても同一処方フードを与えること。水を除いて、試験用フードが唯一の栄養源であること。自由摂取又はエネルギー要求量に基づいて給餌する。給餌の中断はその旨を明らかにしておくこと。給餌の中断は試験を無効とすることもあり得る。
- (4) 測 定 項 目
- ① 毎日のフード摂取量を測定し記録する。
  - ② 体重を、試験開始時、毎週、試験終了時に測定し記録する。
  - ③ ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血清アルブミンを試験終了時に測定し記録する。
  - ④ 獣医による子犬の健康診断を試験開始時と終了時に行う。子犬の健康状態、身体、被毛の状態を評価し、コメントを記録する。
  - ⑤ 使用した医薬品は記録し、使用理由も記録する。
  - ⑥ 供試犬数の25%を超えない範囲で、非栄養的理由、フード低摂取の理由で除くことができる。理由は記録する。フード低摂取の理由で除くことができるのは、試験開始2週間までとする。除去するまでのデータは、最終評価には含まないが、保存すること。
  - ⑦ 試験期間中に死亡した子犬は剖検し、記録する。
- (5) 評 価
- A. 供試子犬は栄養欠乏又は過剰の臨床或いは病理的理由症状を示した場合は試験不合格である。
  - B. 非栄養的理由又はフード低摂取の理由で除いた子犬以外の供試子犬については、試験を成功のうちに終了しなければならない。

- C. 子犬の平均体重増加は次の値より少なくないこと。
- ① これまでに集積された供試犬種の子犬の体重増加の平均値の75%以上の発育をしていること。
  - ② これまでに集積された供試犬種の子犬体重の標準誤差の2.33倍の値以上のマイナスの開きがないこと。
- D. 試験終了時の平均ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血清アルブミンの値は次の値を下回らないこと。
- |         |           |        |          |
|---------|-----------|--------|----------|
| ヘモグロビン  | :11.0g/dl | (個体として | 9g/dl)   |
| ヘマトクリット | :33%      | ( "    | 27%)     |
| アルブミン   | :2.6g/dl  | ( "    | 2.2g/dl) |

## 【C】 妊娠・授乳期用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール

- (1) 供 試 犬
- ① 最小限8頭の妊娠雌犬を試験用に確保するため、試験前に十分な数の雌犬を準備する。
  - ② 雌犬は少なくとも、第2発情期にありかつ1歳令以上であること。
  - ③ 供試犬は獣医による健康診断に合格していること。
  - ④ 犬のサイズや品種は特定しないが、雌犬と雄犬の品種は同一であること。
  - ⑤ 評価のための標準値を求めるには、最少30頭の雌犬が必要であるが、対照区を設ける場合は最少8頭の雌犬を用いる。品種の分布は試験区と同一であること。  
一腹の子犬頭数が多い場合は、一腹の子犬の数を下記の数にまで試験から減らすことができる。除いた子犬は一腹頭数の少ない母犬に回してもよい。
- |      |         |      |   |
|------|---------|------|---|
| 成犬体重 | 10kg以下  | 一腹頭数 | 5 |
|      | 10～25kg | 〃    | 6 |
|      | 25kg以上  | 〃    | 8 |
- (2) 試 験 期 間 試験は発情前或いは発情時から開始する。子犬が4週令に達したとき、離乳していなくても試験を終了する。
- (3) 給 餌 製造バッチが異なっても同一処方フードを与えること。水を除いて、試験用フードが唯一の栄養源であること。自由摂取又はエネルギー要求に基づいて給餌する。試験の中断があった場合はその旨を記録する。中断は試験を無効にする場合もある。水は自由に飲めること。
- (4) 測 定 項 目
- ① 妊娠中の雌犬の毎日の食餌摂取量及び授乳中の母犬と子犬の食餌摂取量を測定し記録する。
  - ② 各母犬については、試験開始前、妊娠中は毎週、出産24時間以内、授乳4週目までは毎週、体重を測定し記録すること。
  - ③ 出産時、1日目、4週目の一腹の子犬頭数を記録すること。死産及び先天性異常も記録しなければならない。
  - ④ ヘモグロビン、ヘマトクリット、血清アルブミンを試験終了時に測定する。
  - ⑤ 全母犬について獣医による健康診断を試験開始時、終了時に実施すること。母犬の全体的な健康状態、体調、毛の艶の状態、及びコメントを記録すること。  
子犬は、全数を生後72時間以内及び試験終了時に健康診

断を実施する。各子犬は全体的な健康状態、身体、被毛の状態を評価し、コメントを記録すること。

- ⑥ 使用した医薬品は記録し、使用理由も記録すること。
- ⑦ 供試雌犬の25%を越えない範囲で、非栄養的理由、フード低摂取の理由で試験から除くことができる。理由は記録する。フード低摂取の理由で試験から除くことができるのは、試験開始2週目までとする。除去するまでのデータは、最終評価には含ませないが、保存すること。

(6) 評価

- ⑧ 試験中に死亡した雌犬、子犬は剖検し、記録する。
- A. 雌犬或いは子犬が栄養欠乏又は過剰の臨床的又は病理的症状を示した場合は試験不合格である。
- B. 非栄養的理由又はフード低摂取の理由で除いた雌犬以外の供試犬については、試験は成功のうちに終了しなければならない。1日令時の子犬の数の80%が生存し、試験は首尾よく終了しなければならない。
- C. 妊娠犬は妊娠期間中体重の増加があること。試験開始と終了時の平均体重変化(%)は次の何れかより少なくてはならない。
  - ① これまでに集積された平均体重変化より標準誤差の2.33倍を差し引いた値。標準誤差は群標準偏差を供試犬数の平方根で割って求める。
  - ② 対照区の平均体重変化から正規偏差値を差し引いた値。正規偏差値は試験区と対照区を併せて、2つの区の平均の差の標準誤差の2.62倍と定義される。
- D. 試験終了時、子犬の平均体重は次の何れかより少なくてはならない。
  - ① これまでに集積された子犬の平均体重の75%。
  - ② これまでに集積された子犬体重平均より標準誤差の2.33倍を差し引いた値。標準誤差は群標準偏差を供試犬数の平方根で割って求める。
- E. 試験終了時、雌犬の平均体重は次の何れかより少なくてはならない。
  - ① これまでに集積された平均体重の80%。
  - ② これまでに集積された雌犬体重平均より標準誤差の2.33倍を差し引いた値。標準誤差は群標準偏差を供試犬数の平方根で割って求める。

F. 試験終了時、平均ヘモグロビン、ヘマトクリット、血清アルブミン値は次の何れかより少なくてはならない。

① ヘモグロビン :10.0g/dl (個体として 8.0g/dl)

ヘマトクリット :30% ( " 24%)

アルブミン :2.4g/dl ( " 2.2g/dl)

② これまでに集積された平均値より標準誤差の2.33倍を差し引いた値。



### 3. キャットフードが「総合栄養食」であることを証明するためのプロトコール

#### 【A】成猫期／維持期又はメンテナンス用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール

- (1) 供 試 猫 最小限8頭の健康な成猫を用いる。  
少なくとも1歳以上であり、試験開始時の体重が適正であること。  
妊娠・授乳中の雌猫は除く。
- (2) 試 験 期 間 この試験は、最小限26週間続けること。
- (3) 給 餌 製造バッチが異なっても同一処方のフードを与えること。水を除いて、試験用フードが唯一の栄養源でなければならない。自由摂取又はエネルギー要求に基づいて給餌する。給餌の中断は、その旨を明らかにしておくこと。給餌の中断は試験を無効とすることもあり得る。
- (4) 測 定 項 目
- ① 毎日のフード摂取量を測定し、記録する。
  - ② 体重を、試験開始時、毎週、試験終了時に測定し記録する。
  - ③ ヘモグロビン、ヘマトクリット値、血清アルカリフォスファターゼ、血清アルブミン、血液中タウリンを試験終了時に測定し記録する。
  - ④ 供試猫の身体検査を試験開始時と終了時に行う。各猫の全般的健康状態、身体、被毛の状態を評価し、コメントを記録すること。
  - ⑤ 使用した医薬品は記録し、使用理由も記録すること。
  - ⑥ 供試猫数の25%を超えない範囲で、非栄養的理由又はフード低摂取の理由で試験から除くことができる。理由は記録する。フード低摂取の理由で除くことができるのは、試験開始2週間までとする。除去するまでのデータは、最終評価には含まれないが、保存すること。
  - ⑦ 試験期間中に死亡した猫は剖検し、記録する。
- (5) 評 価
- A. 供試猫が栄養欠乏又は過剰の臨床的或いは病理的症状を示した場合は、試験不合格である。
  - B. 非栄養的理由又はフード低摂取の理由で除いた猫以外の供試猫は、試験を成功のうちに終了させなければならない。
  - C. 供試猫固体毎にみて試験終了時の体重が開始時体重の15%以上減少してはならない。平均体重は開始時に比較して終了時10%以上減少してはならない。

D. 試験終了時の平均ヘモグロビン、ヘマトクリット、血液中タウリン、血清アルブミンの値は次の値を下回らないこと。

ヘモグロビン :10.0g/dl (個体として 8g/dl)

ヘマトクリット :30% ( " 24%)

タウリン :300nmol/ml ( " 200nmol/ml)

アルブミン :2.8g/dl ( " 2.4g/dl)

E. 試験終了時の血清アルカリフォスファターゼ値が平均100IU/L以上(個体として200IU/L以上)でないこと。

(6)プロトコールの選択 成猫期/維持期又はメンテナンス用「総合栄養食」を証明するためのプロトコールの代わりに、発育試験又は妊娠・授乳試験のプロトコールを用いることもできる。

## 【B】幼猫期／成長期又はグロース用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール

- (1) 供 試 猫 3腹から生まれた少なくとも8頭の子猫を用いる。子猫は9週令以内でありかつ離乳していること。試験開始前に子猫は獣医による健康診断に合格していること。各腹の子猫について雌雄同数が望ましいが、難しい場合は適切な修正を行う。
- (2) 試 験 期 間 この試験は、最小限10週間続けること。
- (3) 給 餌 製造バッチが異なっても同一処方フードを与えること。水を除いては、試験用フードが唯一の栄養源でなければならない。自由摂取又はエネルギー要求に基づいて給餌する。子猫は個別に或いはグループとして給餌される。給餌の中断はその旨を明らかにしておくこと。給餌の中断は試験を無効とすることもあり得る。
- (4) 測 定 項 目
- ① 毎日のフード摂取量を測定し記録する。
  - ② 体重を、試験開始時、毎週、試験終了時に測定し記録する。
  - ③ ヘモグロビン、ヘマトクリット、血清アルカリフォスファターゼ、血清アルブミン、血液中タウリンを試験終了時に測定し記録する。
  - ④ 供試子猫の健康診断を試験開始時と終了時に行う。子猫の全般的健康状態、身体、被毛の状態を評価し、コメントを記録する。
  - ⑤ 使用した医薬品は記録し、使用理由も記録すること。
  - ⑥ 供試子猫数の25%を超えない範囲で、非栄養的理由又はフード低摂取の理由で除くことができる。理由は記録する。フード低摂取の理由で除くことができるのは、試験開始2週間までとする。除去するまでのデータは、最終評価には含ませないが、保存すること。
  - ⑦ 試験期間中に死亡した子猫は剖検し、記録する。
- (5) 評 価
- A. 供試子猫が栄養欠乏又は過剰の臨床的或いは病理的症状を示した場合は試験不合格である。
  - B. 非栄養的理由又はフード低摂取の理由で除いた子猫以外の供試子猫は、試験を成功のうちに終了させなければならない。
  - C. 子猫の体重増加の平均値は次のいずれかを充足していること。
    - ① これまでに集積された子猫の体重増加の平均値の80%以上の発育をしていること。

② これまでに集積された子猫の体重増加の標準誤差の2.33倍値以上のマイナスの開きがないこと。

D. 試験終了時の平均ヘモグロビン、ヘマトクリット、血液中タウリン、血清アルブミンの値は次の値を下回らないこと。

ヘモグロビン :10.0g/dl (個体として 8g/dl)

ヘマトクリット :29% ( " 26%)

タウリン :300nmol/ml ( " 200nmol/ml)

アルブミン :2.7g/dl ( " 2.4g/dl)

## 【C】妊娠・授乳期用「総合栄養食」を証明するためのプロトコール

- (1) 供 試 猫
- ① 最小限8頭の妊娠雌猫を試験用に確保するため、試験前に十分な数の雌猫を準備する。
  - ② 雌猫は少なくとも、第2発情期にありかつ1歳令以上であること。
  - ③ 供試猫は獣医による健康診断に合格していること。
  - ④ 評価のための標準値を求めるには、最少30頭の雌猫での例が必要である。また試験対照区を設定する場合は、最少8頭の雌猫が必要である。
  - ⑤ 一腹の子猫頭数が5頭を超える場合は、超過した子猫を試験から除外してもよい。また一腹の子猫頭数の少ない雌猫にまわしてもよい。
- (2) 試 験 期 間
- 試験は発情の始まり又はその前から開始し、子猫が6週令になったとき、子猫が離乳していなくても、試験を終了する。
- (3) 給 餌
- 製造バッチが異なっても同一処方フードを与えること。水を除いて、試験用フードが唯一の栄養源であること。自由摂取又はエネルギー要求に基づいて給餌する。試験の中断があった場合はその旨を記録する。中断は試験を無効にする場合もある。水は自由に飲めること。
- (4) 測 定 項 目
- ① 妊娠中の雌猫の毎日のフード摂取量、及び授乳中の母猫と子猫の食餌摂取量を測定し記録する。
  - ② 各母猫について、試験開始時、妊娠中は毎週、出産24時間以内、授乳中は毎週及び試験終了時に体重を測定し記録すること。
  - ③ 出産時、1日目、試験終了時の一腹の子猫頭数を記録すること。死産及び先天性異常も記録しなければならない。
  - ④ 母猫のヘモグロビン、ヘマトクリット、血液中タウリン、血清アルブミンを試験終了時に測定すること。
  - ⑤ 全母猫について獣医による健康診断を試験開始時、終了時に実施すること。母猫の全般的健康状態、身体、被毛の状態を評価し、コメントを記録すること。
  - ⑥ 使用した医薬品は記録し、使用理由も記録すること。
  - ⑦ 供試雌猫の25%を超えない範囲で、非栄養的理由、フード低摂取の理由で試験から除くことができる。理由は記録する。フード低摂取の理由で試験から除くことができるのは、試験開始2週間目までとする。除去するまでのデータは、最終評

(5) 評

- 価には含ませないが、保存すること。
- 価 A. 母猫又は子猫が栄養欠乏或いは過剰の臨床的又は病理的  
症状を示した場合は試験不合格である。
- B. 非栄養的理由又はフード低摂取の理由で除いた母猫以外の  
供試母猫は、試験を成功のうちに終了させなければならない。  
い。
- C. 雌猫は妊娠期間中体重の増加があること。妊娠猫の平均体  
重の変化(%)は次のいずれかより少なくてはならない。  
① 平均体重の変化がマイナス10%(個体としてマイナス  
15%)。  
② これまでに集積された平均体重変化より標準誤差の2.33  
倍を差し引いた値。標準誤差は群標準偏差を供試雌猫数  
の平方根で割って求める。
- D. 試験終了時の子猫の平均体重は次のいずれかより少なくて  
はならない。  
① これまでに集積された子猫の平均体重の80%。  
② これまでに集積された平均体重変化より標準誤差の2.33  
倍を差し引いた値。標準誤差は群標準偏差を供試雌猫数  
の平方根で割って求める。
- E. 試験終了時の一腹の平均体重は次のいずれかより少なくて  
はならない。  
① これまでに集積された一腹の平均体重の80%。  
② これまでに集積された一腹の平均体重変化より標準誤差  
の2.33倍を差し引いた値。標準誤差は群標準偏差を供  
試雌猫数の平方根で割って求める。
- F. 試験終了時の平均ヘモグロビン、ヘマトクリット、血液中タウリ  
ン、血清アルブミンの値は次の値を下回らないこと。  
① ヘモグロビン:9.5g/dl (個体として 8g/dl)  
ヘマトクリット:29% ( " 26%)  
タウリン :300nmol/ml( " 200nmol/ml)  
アルブミン :2.7g/dl ( " 2.4g/dl)  
② これまでに集積された測定値の標準誤差の2.33倍を差し  
引いた値。標準誤差は群標準偏差を供試雌猫数の平方根で  
割って求める。

## 【参考資料】

ヘモグロビン(血色素) 赤血球は、ヘモグロビンを含有するため淡黄色を呈し、酸素及び炭酸ガスを結合し重要なガス代謝を行う。  
(酸素運搬能の指標とする)

ヘマトクリット値 全血液に対する赤血球の容量%を血液容積、則ちヘマトクリット値と称する。  
一般に貧血の場合は、ヘマトクリット値が低下する。

二つの項目を測定することにより、体液の移動、循環血液の血液成分、酸素運搬能を観察できる。