

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2020.03.10

咪唑苯脲注射液特殊安全性试验研究

刘欣彤¹, 王玉凤¹, 陈孝杰¹, 刘义明¹, 徐飞¹, 王宏磊¹,
张志博¹, 张向阳¹, 李存^{2*}, 李秀波^{1*}

(1. 中国农业科学院饲料研究所, 国家饲料药物基准实验室, 北京 100081; 2. 天津农学院动物科学与动物医学学院, 天津 300384)

[收稿日期] 2020-01-17 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2020) 03-0053-10 [中图分类号] S859.795

[摘要] 通过豚鼠、新西兰大白兔的皮肤致敏、皮肤刺激、肌肉刺激、红细胞溶血试验, 考察咪唑苯脲注射液的安全性。试验用新西兰大白兔 6 只进行皮肤刺激, 染毒剂量为咪唑苯脲注射液 0.5 mL/只 (规格: 1211.5 mg/mL); 用白化豚鼠进行皮肤致敏试验, 按 0.5 mL/kg 剂量, 以豚鼠背部左侧皮肤进行染毒; 用新西兰大白兔 8 只, 进行肌肉刺激试验, 在右侧股四头肌注入 0.1、0.2、0.5 mL/kg bw, 左侧股四头肌注入同样体积的灭菌 0.9% 氯化钠溶液作对照; 用新西兰大白兔 2 只, 进行红细胞溶血试验, 采用体外试管法进行, 采心脏血 50 mL, 制成红细胞悬液, 加入受试药物原液温育 3 h。结果显示, 皮肤刺激试验: 受试物咪唑苯脲注射液各个时间点的刺激反应积分均值为 0; 皮肤致敏试验: 受试药物组和阴性对照组豚鼠的皮肤过敏反应率为 0; 肌肉刺激试验: 给予受试物各个时间点的刺激反应积分均值为 0; 红细胞溶血试验: 受试药物及阴性对照在 3 h 内红细胞全部下沉, 上清液体均为澄清, 溶液中未见棕红色或红棕色絮状沉淀。试验表明, 咪唑苯脲注射剂无皮肤刺激性、不出现过敏反应、无肌肉刺激性、无溶血和凝聚作用, 临床上可以肌肉注射使用。

[关键词] 咪唑苯脲注射液; 特殊安全性; 皮肤刺激; 皮肤致敏; 肌肉刺激; 红细胞溶血性

Special Safety Research of Imidocarb Injection

LIU Xin-tong¹, WANG Yu-feng¹, CHEN Xiao-jie¹, LIU Yi-ming¹, XU Fei¹,
WANG Hong-lei¹, ZHANG Zhi-bo¹, ZHANG Xiang-yang¹, LI Cun^{2*}, LI Xiu-bo^{1*}

(1. Veterinary Microorganism Laboratories, Feed Research Institute Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China)

Corresponding author: LI Xiu-bo, E-mail: lixiubo@caas.com; LI Cun, E-mail: hhlicun@163.com

Abstract: Study on the safety of imidocarb injection through skin sensitization, skin irritation, muscle stimulation and erythrocyte hemolysis test in guinea pigs and New Zealand white rabbits was made so as to provide reference for clinical medication safety. The skin irritation test with 6 New Zealand white rabbits was done, and the dose of

基金项目: 国家重点研发计划项目 (No. 2016YFD0501305); 国家重点研发计划项目 (No. 2018YFD0501603)

作者简介: 刘欣彤, 硕士研究生, 从事耐药性方面研究。

通讯作者: 李秀波, E-mail: lixiubo@caas.com; 李存, E-mail: hhlicun@163.com

the drug was 0.5 mL (specification: 1211.5 mg/mL); The skin sensitization experiment was carried out with albino guinea pig, exposure to the left side of the back of the guinea pig at a dose of 0.5 mL/kg; do the muscle stimulation test with 8 New Zealand white rabbits, injection of 0.1、0.2、0.5 mL/kg bw. into the right quadriceps, the left quadriceps was injected with the same volume of sterilized 0.9% sodium chloride solution as a control; do the erythrocyte hemolysis test with 2 New Zealand white rabbits by external test tube method, collect heart blood 50 mL, make blood cell suspensions, and then add the liquid temperature of the tested medicine 3 h. Results of skin irritation test; the average value of stimulating reaction points of the subjects with imidocarb injection at different time points was 0. Skin sensitization test; the allergic reaction rate was 0 which guinea pigs were treated with the tested drug group and the negative control. Muscle stimulation test; the mean value of stimulation reaction points at each point was 0. Hemolysis of erythrocyte test; the red cells of the tested drugs and the negative control all sunk in 3 h, and the supernatant liquid was clear, no brown or red - brown flocculent precipitate was seen in the solution. The results showed no skin irritation, no allergic reaction, no muscular irritation, no hemolysis and condensation in the injection of imidocarb injection, it is clinically safe enough for muscle injection.

Key words: imidocarb injection; special safety; skin irritation; skin sensitization; muscle stimulation; hemolysis of erythrocyte

咪唑苯脲注射液(imidocarb, IM)又称双脒苯脲或咪多卡,是一种动物专用二苯基脲衍生物类新型抗原虫的化学药物^[1]。该药是由 Schmidt 应用鼠骆巴贝西虫筛选均二苯脲类化合物时发现的,由 Beveridge 研究证实该药的半数致死量低于其他抗巴贝西虫药物,已上市产品由瑞士 Monbijoustrasse 公司研发^[2]。我国在 1985 年首次成功合成了咪唑苯脲的二丙酸盐和双盐酸盐形式。由于双盐酸盐对局部组织具有较强刺激性,临床上一概常用二丙酸盐做成制剂^[3],通过肌肉或皮下注射的方式给药^[4]。在抗犬^[5]、牛^[6]、羊^[7]、羔羊^[8]、马^[9]巴贝西虫病方面具有良好的治疗和预防效果,也可用于抗牛泰勒虫病^[10]、抗牛边虫病^[11]、抗小鼠利什曼病^[12]、抗犬埃立克体病^[13]、抗羊/猪附红细胞体病^[14-15]、抗梨形虫病^[16]、抗锥虫病^[17]等^[18]。注射后迅速吸收并分布于全身组织,1 h 后即可达到血药峰浓度,在肾脏中浓缩并以原型再吸收,在肝脏中解毒。本品毒副作用较小,但静脉注射毒性大,且内服无效^[19]。作为兽用专用药,咪唑苯脲具有用量小、药效持久、疗程短、刺激小、耐药性低、使用方便等特点。该药已广泛应用于世界各地,是当今国际公认的最佳抗原虫药^[20]。鉴于国内当前没有咪唑苯脲注射液临床使用有关全部特殊安全性方

面的资料,且我国已批准进口该药,根据农业部公告要求,在国内生产此产品,须进行特殊安全性试验。因此,本研究通过豚鼠、新西兰大白兔的皮肤致敏、皮肤刺激、肌肉刺激、红细胞溶血试验,全面考察咪唑苯脲注射液的特殊安全性,为其临床用药提供參考。

1 材料与方法

1.1 受试药物 咪唑苯脲注射液, 1211.5 mg/mL, 由齐鲁动物保健品有限公司提供,批号: 1503003。阳性对照药物: 1-氯-2,4-二硝基苯(含量 99%), 购自北京百灵威科技有限公司。

1.2 试验动物 新西兰大白兔(体重 2.5~3 kg) 16 只,雌雄各半,单笼、常规饲料喂养,自由饮水,由北京市海淀兴隆实验动物养殖厂提供,动物质量合格证编号为: SLB112018122420091788 和 SLB112018122420091780;豚鼠系 Hartley 种白化豚鼠 26 只(一级,体重 260~320 g),雌雄各半,常规饲料喂养,自由饮水,由北京市海淀兴旺动物养殖场提供,动物生产许可证编号: SCXK(京) 2016-0003。

1.3 试验方法及判定原则

1.3.1 皮肤刺激试验 采用新西兰大白兔进行,分组及剂量见表 1。取咪唑苯脲注射剂,直接涂布

于左侧已去毛的皮肤上,然后用二层纱布(2.5 cm × 2.5 cm) 和一层无刺激塑料膜覆盖,再用无刺激胶布固定,家兔的右侧去毛皮肤涂布赋形剂(生理盐水) 作对照。贴敷 4 h 后,除去受试物并用温水清洁给药部位。每天一次,连续 7 d,每次给药时间相同。每次去除药物后 1 h 以及再次贴敷前观察去毛部位皮肤是否有红斑、水肿及其他异常表现,并在末次给药后 1、24、48、72 h 肉眼观察去毛部位皮肤局部反应,按照《药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则》^[21] (以下简称《原则》) 进行刺激反应评分。按表 2 判定受试动物评分积分的平均值进行综合评价,最高积分均值 <0.50,无刺激性;0.50 ~ 2.99,轻度刺激性;3.00 ~ 5.99,中度刺激性;6.00 ~ 8.0,强刺激性。

表 1 皮肤刺激试验分组、剂量

Tab 1 Test group and dose of skin irritation response		
分组 (Group)	数量 (Quantity)	剂量 (Dose) /mL
试验 (Test)	3	0.5
对照 (Control)	3	0.5

表 2 皮肤刺激反应评分标准

Tab 2 Skin irritation response scoring criteria		
	刺激反应 (Stimulus response)	分值 (Score)
红斑	无红斑	0
	轻度红斑 (勉强可见)	1
	中度红斑 (明显可见)	2
	重度红斑	3
	紫红色红斑到轻度焦痂形成	4
水肿	无水肿	0
	轻度水肿 (勉强可见)	1
	中度水肿 (明显隆起)	2
	重度水肿 (皮肤隆起 1 mm,轮廓清楚)	3
	严重水肿 (皮肤隆起 1 mm 以上并有扩大)	4
最高总分值		8

1.3.2 皮肤致敏试验 采用白化豚鼠进行,分组及剂量见表 3,以豚鼠背部左侧皮肤进行染毒。先

进行诱导接触,分别在试验 0、7、14 d 时,在试验组豚鼠左侧备皮处涂敷咪唑苯脲注射液,在阳性对照组动物相同部位涂敷 2,4 - 二硝基氯苯。末次诱导后 14 d 进行激发接触,实验组和阴性对照组涂敷咪唑苯脲注射液,阳性对照组动物涂敷 2,4 - 二硝基氯苯。激发接触实验染毒后 24、48、72 h,根据表 4 和表 5 评判是否出现皮肤致敏反应并判定致敏强度。

表 3 皮肤致敏试验分组、剂量

Tab 3 Test group and dose of skin sensitization response		
分组 (Group)	数量 (Quantity)	剂量 (Dose)
试验 (Test)	14	0.5 mL/kg
阴性 (Negative)	6	0
阳性 (Positive)	6	0.2 mL

表 4 皮肤过敏反应程度的评分标准

Tab 4 Score criteria for the degree of skin allergy	
皮肤过敏反应 (Skin allergy)	分值 (Score)
无红斑	0
轻度红斑,勉强可见	1
红斑 中度红斑,明显可见	2
重度红斑	3
紫红色红斑到轻度焦痂形成	4
无水肿	0
轻度水肿,勉强可见	1
水肿 中度水肿,明显可见 (边缘高出周围皮肤)	2
重度水肿,皮肤隆起 1 mm,轮廓清楚	3
严重水肿,皮肤隆起 1 mm 以上或有水泡或破溃	4
最高总分值	8

表 5 皮肤致敏性评价标准

Tab 5 Evaluation criteria for skin sensitization	
致敏发生率 (Sensitization rate) /%	皮肤致敏性评价 (Skin sensitization evaluation)
0 ~ 10	无致敏性
11 ~ 30	轻度致敏性
31 ~ 60	中度致敏性
61 ~ 80	高度致敏性
81 ~ 100	极度致敏性

1.3.3 肌肉刺激试验 采用新西兰大白兔进行, 分组及剂量见表 6。试验前 24 h 剪去两侧股四头肌部位的兔毛, 碘酊和乙醇消毒后分别在右侧股四头肌注入受试药物(对照组注入 0.9% 氯化钠溶液), 左侧股四头肌注入同样体积的灭菌 0.9% 氯化钠溶液作为右侧的对照。给予受试物后 4、12、24、48 h 观察皮肤表面的反应及变化情况。观察 48 h 后将家兔处死, 剖开股四头肌, 肉眼观察注射部位肌肉组织的药液吸收情况, 检查注射局部是否产生刺激性反应; 并将高、中、低剂量组和对照组各 2 只(雌雄各 1 只)注射部位肌肉标本用 10% 中性福尔马林固定液浸泡固定, 做组织切片进行病理学检验。根据《原则》进行刺激反应评分。根据表 7 计算肌

表 6 肌肉刺激试验分组和剂量

分组(Group)	数量(Quantity)	剂量(Dose)
1 倍剂量(One dose)	2	0.1 mL/kg
2 倍剂量(Double dose)	2	0.2 mL/kg
5 倍剂量(Quintuple dose)	2	0.5 mL/kg
对照(Control)	2	0.5 mL/kg

表 7 肌肉刺激反应分级标准

刺激反应(Stimulus response)	反应级(Reaction order)
无明显变化	0
轻度充血, 范围在 0.5 × 1.0 cm 以下	1
中度充血, 范围在 0.5 × 1.0 cm 以上	2
重度充血, 伴有肌肉变性	3
出现坏死, 有褐色变性	4
出现广泛性坏死	5

表 8 平均分值和等级

平均分值(Average score)	等级(Grade)
0.0 ~ 0.4	无
0.5 ~ 1.4	轻微
1.5 ~ 2.4	轻度
2.5 ~ 3.4	中度
3.5 ~ 4.4	重度
4.5 及以上	严重

肉刺激性总反应级, 计算平均值, 按表 8 判定刺激等级。若各股四头肌反应级的最高与最低之差大于 2, 应另取动物重新试验。

1.3.4 溶血试验 试验动物为新西兰大白兔 2 只, 采用体外试管法, 即肉眼观察法进行, 分组及剂量见表 9。采心脏血 50 mL, 制成脱纤血液, 处理后置 37 ± 0.5 ℃ 的恒温箱中进行温育。15 min、1 h、2 h、3 h 各观察 1 次, 若试验中的溶液呈澄明红色, 管底无细胞残留或有少量红细胞残留, 表明有溶血发生; 如红细胞全部下沉, 上清液体无色澄明, 表明无溶血发生。若溶液中有棕红色或红棕色絮状沉淀, 振摇后不分散, 表明有红细胞凝聚发生。如有红细胞凝聚的现象, 进一步判定是真凝聚还是假凝聚。

表 9 红细胞溶血试验分组、剂量

cell haemolysis response				
试管 编号 (Test tube No.)	2% 红细胞 悬液/mL (2% Red cell suspension)	0.9% 氯化 钠/mL (0.9% Sodium chloride)	蒸馏水/mL (Distilled water)	受试物 /mL (Test medicine)
1	2.5	2.0	0	0.5
2	2.5	2.1	0	0.4
3	2.5	2.2	0	0.3
4	2.5	2.3	0	0.2
5	2.5	2.4	0	0.1
6	2.5	2.5	0	0
7	2.5	0	2.5	0

2 结果与分析

2.1 皮肤刺激试验 6 只受试新西兰大白兔连续给药 7 d 期间, 在其去毛部位均未观察到皮肤红斑、水肿及其他异常表现, 且在停药后观察期限内的各个时间点均未出现红斑和水肿等刺激反应, 见图 1; 根据《原则》判定受试物咪唑苯脲注射液各个时间点的刺激反应积分均值为 0, 与阴性对照组比较无显著差异, 详见表 10, 表明受试物咪唑苯脲注射液对新西兰大白兔无皮肤刺激性。

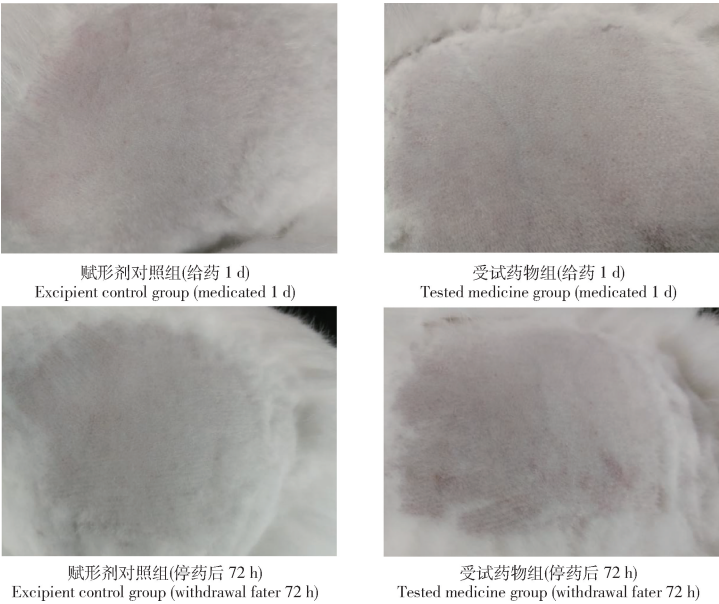


图 1 新西兰大白兔皮肤刺激结果

Fig 1 Results of New Zealand white rabbits skin stimulation

表 10 皮肤刺激分值

Tab 10 Skin irrigation score

给药天数/d (Testing time)	组别 (Group)	动物数 (Animal quantity)	皮肤红斑分值 (Skin erythema score)					皮肤水肿分值 (Skin edema score)					皮肤刺激率/% (Irrigation Occurrence rate)	皮肤刺激总分值 (Skin irrigation total score)
			0	1	2	3	4	0	1	2	3	4		
1	试验 (Test)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	对照 (Control)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
2	试验 (Test)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	对照 (Control)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
3	试验 (Test)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	对照 (Control)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
4	试验 (Test)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	对照 (Control)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
5	试验 (Test)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	对照 (Control)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
6	试验 (Test)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	对照 (Control)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
7	试验 (Test)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	对照 (Control)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
1 (Withdrawal)	试验 (Test)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	对照 (Control)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
2 (Withdrawal)	试验 (Test)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	对照 (Control)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
3 (Withdrawal)	试验 (Test)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0
	对照 (Control)	6	6	0	0	0	0	6	0	0	0	0	0	0

2.2 皮肤致敏试验 受试药物组和阴性对照组豚鼠的皮肤在激发给药 24、48、72 h 后,皮肤均未见红斑和水肿现象(图 2);根据《原则》判定受试药物组和阴性对照过敏反应率为 0,而阳性对照组豚鼠均

出现严重或中度红斑和水肿,过敏反应发生率为 100%(表 11)表明受试药物咪唑苯脲注射液对豚鼠皮肤进行诱导后不出现过敏反应,试验结果为阴性。



图 2 豚鼠给药后 72 h 皮肤致敏结果

Fig 2 Results of guinea pigs skin sensitization after administration 72 h

表 11 皮肤致敏率

Tab 11 Skin sensitization rate

时间 (Time)/h	分组 (Group)	皮肤红斑分值 (Skin erythema score)					皮肤水肿分值 (Skin edema score)					过敏率 (Allergy rate)/%
		0	1	2	3	4	0	1	2	3	4	
24	阳性 (Positive)	0	4	2	0	0	0	4	2	0	0	100
	阴性 (Negative)	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	试验 (Test)	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
48	阳性 (Positive)	0	3	2	1	0	0	3	2	1	0	100
	阴性 (Negative)	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	试验 (Test)	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
72	阳性 (Positive)	0	3	3	0	0	0	3	2	1	0	100
	阴性 (Negative)	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	试验 (Test)	14	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

2.3 肌肉刺激试验 给予受试物后 4、12、24、48 h 均未观察到注射部位充血、瘙痒、起包。给予受试物后 48 h 处死各剂量组和对照组各 2 只(雌雄各 1 只)家兔,病理显示其组织注射部位血管未见出血、血栓、血管扩张充血、间质炎细胞浸润及血管壁周围组织坏死等异常改变,详见图 3。判定各个时间点的刺激反应分值均为 0,与阴性对照组比较无显著差异,详见表 12,由此表明受试物咪唑苯脲注射液对新西兰大白兔无皮肤刺激性。

表 12 刺激性反应分值

Tab 12 Irritation score

剂量 (Dose)	动物编号 (Animal NO.)	刺激病变情况 (Irritant lesion)	肌肉刺激分级 (Muscle irritation score)
高 (High dose)	1	无肉眼可见变化	0
	2	无肉眼可见变化	0
中 (Medium dose)	3	无肉眼可见变化	0
	4	无肉眼可见变化	0
低 (Low dose)	5	无肉眼可见变化	0
	6	无肉眼可见变化	0
对照 (Control)	7	无肉眼可见变化	0
	8	无肉眼可见变化	0

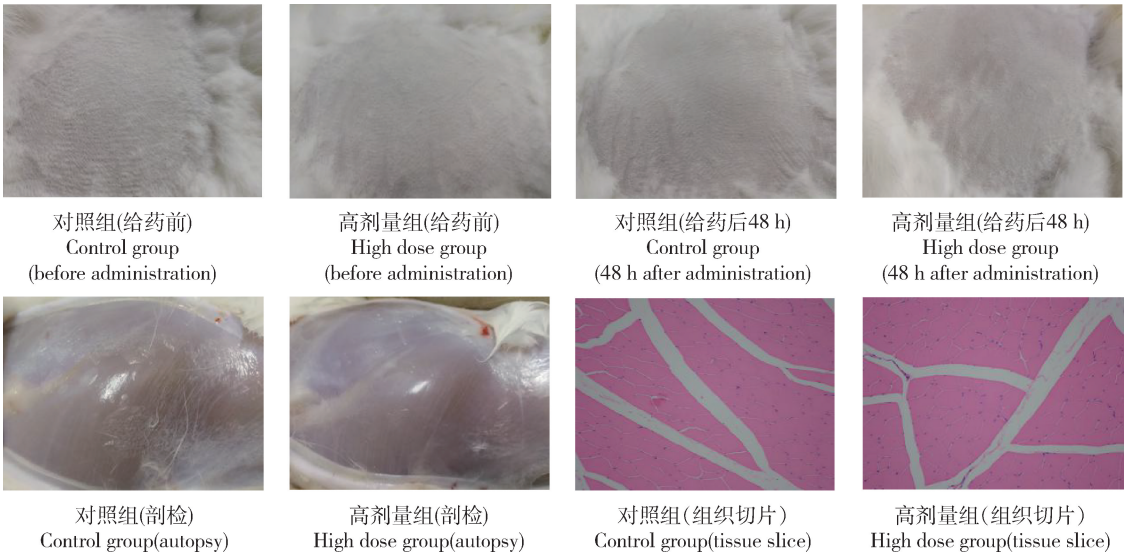


图 3 新西兰大白兔给药后 48 h 皮肤致敏及病理结果

Fig 3 Result of New Zealand white rabbits skin sensitisation pathology after administration 48h

2.4 溶血试验 图 4 结果显示,1~6 号试管在 3 h 内红细胞全部下沉,上清液体均为澄明,溶液中未见有棕红色或红棕色絮状沉淀;7 号试管中的溶液呈澄明红色,管底无细胞残留或有少量红细胞残

留。结果可判定受试药物及阴性对照未发生溶血和凝聚,阳性对照组发生溶血,表明咪唑苯脲注射液对兔红细胞无溶血和凝聚作用,可以注射使用。

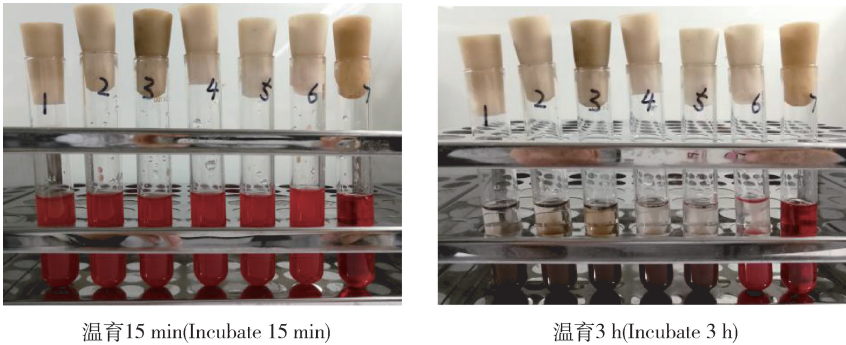


图 4 新西兰大白兔红细胞溶血性结果

Fig 4 Result of New Zealand white rabbits red blood cell hemolysis

3 讨论与结论

药物特殊安全性试验是注射剂临床前安全性评价的重要组成部分,主要由体外溶血性试验、过敏性试验、局部刺激性试验等组成。任何一项试验结果出现阳性,则表明该药安全性评价不符合标准,不宜通过注射途径给药^[21]。药物刺激性是指药物制剂经非口服途径给药,对用药局部产生刺激

性。通过药物在给药部位使用后是否引起局部或全身毒性,以揭示临床应用时可能出现的毒性反应、安全范围等指标,并为临床提供参考^[22]。

咪唑苯脲注射液涂敷部位的皮肤刺激试验,给药剂量为 0.5 mL。试验中同时进行了生理盐水的阴性对照试验。结果表明,受试兔在给药后的 1 h 内和每次去除药物后 1 h 以及再次贴敷前去毛部

位皮肤均未出现异常表现;在试验的第 7 天及停药后 3 天内受试兔外观及病理观察均正常。由此可见,咪唑苯脲注射液经皮肤涂敷连续给药 7 天及停药后对受试兔是安全的。

咪唑苯脲注射液注射部位的肌肉刺激试验,给药剂量为 0.1 mL/kg,约为临床正常剂量(1 倍剂量)。试验中同时进行了 2 倍剂量组、5 倍剂量组和 0.9% 氯化钠溶液的对照组试验。结果表明,每组受试兔的刺激反应分值均为 0,与阴性对照组比较无显著差异;剖检股四头肌,肉眼观察注射部位肌肉组织的药液吸收良好,注射局部未产生刺激性反应;病理组织注射部位肌肉切片的血管未见异常改变,病理学检验正常。由此可见,咪唑苯脲注射液以 5 倍剂量经肌肉注射对受试兔是安全的。

随着上市新药的增多,尤其是注射途径药物的广泛应用,药物致敏反应的发生率大大提高^[21]。因此,临床前致敏反应评价非常关键。皮肤致敏是将具有致敏作用的化学物质经一定途径进入机体,与组织蛋白结合形成完全抗体,刺激免疫活性细胞产生致敏淋巴细胞或体液抗体;经 1~2 周致敏期,使体内免疫反应得到充分发展,形成一定数量的致敏淋巴细胞或特异抗体;当再次接触(激发)时使机体对该化学物质产生感受性增高的状态,以一定的异常形式表现出来的反应。

咪唑苯脲注射液涂抹部位的皮肤致敏试验,给药剂量为 0.5 mL/kg。试验中同时进行了涂抹 0.2 mL 2,4-二硝基氯苯的阳性对照和末次诱导后 14 d 再涂敷咪唑苯脲注射液的阴性对照。结果表明,激发接触实验染毒后受试药物组和阴性对照组受试豚鼠,无肉眼可见的病理变化,受试物咪唑苯脲注射液无过敏反应;阳性对照组豚鼠均出现过过敏反应。由此可见,咪唑苯脲注射液以 0.5 mL/kg 的剂量经皮肤涂敷给药对受试豚鼠是安全的。

药物制剂引起体内溶血可分为免疫性溶血和非免疫性溶血两类,都通过药物引发溶血反应。因此,凡是注射液和可能引起溶血反应的其他药物制剂均应进行溶血性试验。

本研究对咪唑苯脲注射液进行了溶血性试验,

结果表明咪唑苯脲注射液对受试兔红细胞无溶血和凝聚现象,可供临床注射使用。

近年来,动物原虫病的发病率逐年上升,部分病已呈局部流行的趋势。因此,在畜牧养殖过程中,抗原虫药对于动物原虫病的预防及治疗尤为重要。抗原虫药主要包括抗球虫药、抗锥虫药、抗梨形虫药、抗滴虫药四大类。抗球虫药主要分为三类。三嗪类的地克珠利和妥曲珠利,缺点为半衰期短且易产生耐药性^[23]。二硝基类的二硝托胺为产蛋期禁用的药物;尼卡巴嗪的副作用较大,在体内蓄积时间长,因此在长休药期期间可复发其他疾病,甚至造成死亡^[24]。磺胺类药物不适用于肾脏有疾病的畜禽,且不可长期连用;磺胺氯吡嗪的毒性较大,抗虫谱较窄^[24]。锥虫病的主要传播体是自然界的蜱虫,喹啉胺作为抗锥虫药物在家禽中应用较少^[24]。巴贝西虫病经蜱传播,治疗药物有黄色素、贝尼尔、硫酸喹啉脲和咪唑苯脲。病牛服用黄色素后对光较敏感,强光照射易灼伤^[25];贝尼尔的副反应较大^[26];使用硫酸喹啉脲需特别注意妊娠奶牛可能发生流产。滴虫为单细胞原虫,火鸡、鸽子、犊牛均可感染滴虫病。抗滴虫的药物甲硝唑,在一些国家只允许用作治疗药物,不允许用作添加剂长期使用^[27]。

1986 年,Vos A J D 的研究结果表明,咪唑苯脲作为一种有效预防牛巴贝斯虫感染的药物,对牛痘苗的传染性有明显的抑制作用,是一种有效的牛分枝杆菌化疗药物^[28]。2019 年,Ehimiyein A M 的研究结果表明,犬巴贝斯虫引起的行为和临床血液学损伤的实验感染,如口干、眼内有分泌物、脾肿大、贫血和血小板减少症,在联合应用咪唑苯脲和丙氨酸丙咪唑的情况下得到了最佳的改善,是治疗犬巴贝斯虫病的有效药物^[29]。但国内外当前没有关于咪唑苯脲注射液临床使用有关全部特殊安全性研究报告。

本研究通过豚鼠和新西兰大白兔进行的皮肤致敏、皮肤刺激、肌肉刺激、红细胞溶血试验结果表明,咪唑苯脲注射剂无皮肤刺激性、不出现过过敏反应(致敏率为 0)、无肌肉刺激性、无溶血和凝聚作

用,未对受试动物产生明显的不良影响,受试动物未见异常行为,临床上可以肌肉注射使用,具有良好的应用前景。

参考文献:

- [1] 王兆学,毕可东,高光平,等. 紫外系数倍率法测定盐酸咪唑苯脒缓释剂在健康奶牛中的血药浓度[J]. 畜牧与兽医, 2008, 40(6):73-76.
Wang Z X, Bi K D, Gao G P, *et al.* UV coefficient multiplier method was used to determine the blood concentration of the sustained release agent in healthy cows[J]. Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2008, 40(6):73-76.
- [2] 赵蕾蕾,杨娟,刘义明,等. 动物专用抗原虫药咪唑苯脒研究进展[J]. 中国畜牧兽医, 2012, 39(2):151-155.
Zhao L L, Yang J, Liu Y M, *et al.* Research progress in animal-specific antiprotozoal drug imidocarb[J]. Chinese Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2012, 39(2):151-155.
- [3] 刘友华. 超高效液相色谱-串联质谱法测定乳制品中咪唑苯脒残留量[J]. 中国科技信息, 2017, (13):91-92.
Liu Y H. Ultra high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry was used to determine the imidazobenzourea residues in dairy products[J]. China Science and Technology Information, 2017, (13):91-92.
- [4] 于慧敏,黄显会,杨刚,等. 高效液相色谱法测定猪组织中残留的咪唑苯脒[J]. 华南农业大学学报, 2011, 33(2):239-243.
Yu H M, Huang X H, Yang G, *et al.* Determination of imidocarb residue in swine tissue by high performance liquid chromatography[J]. Journal of South China Agricultural University, 2011, 33(2):239-243.
- [5] Penzhorn B, Lewis L, de Waal B D, *et al.* Sterilization of *Babesia canis* infections by imidocarb alone or in combination with diminazene[J]. J s Afr Vet Assoc, 1995, 66(3):157-159.
- [6] Kuttler K L, Johnson L W. Chemoprophylactic activity of imidocarb, diminazene and oxytetracycline against *Babesia bovis* and *B. bigemina*[J]. Vet Parasitol, 1986, 21(2):107-118.
- [7] McHardy N, Woollon R M, Clampitt R B, *et al.* Efficacy, toxicity and metabolism of imidocarb dipropionate in the treatment of *Babesia ovis* infection in sheep[J]. Res Vet Sci, 1986, 41:14-20.
- [8] Sevinc F, Turgut K, Sevinc M, *et al.* Therapeutic and prophylactic efficacy of imidocarb dipropionate on experimental *Babesia ovis* infection of lambs[J]. Vet Parasitol, 2007, 149(12):65-71.
- [9] Grause J F, Ueti M W, Nelson J T, *et al.* Efficacy of imidocarb dipropionate in eliminating *Theileria equi* from experimentally infected horses[J]. Vet J, 2013, 196(3):541-546.
- [10] Purnell R E, Rae M C. The use of imidocarb dipropionate for the treatment of *Theileria sergenti* infections of cattle[J]. Aust Vet J, 1981, 57(5):224-229.
- [11] Wilson A J, Parker R, Parker M, *et al.* Chemotherapy of acute bovine anaplasmosis[J]. Aust Vet J, 1979, 55(2):71-73.
- [12] Rodrigues F H, Afonso-Cardoso S R, Gomes M A, *et al.* Effect of imidocarb and levamisole on the experimental infection of BALB/c mice by *Leishmania (leishmania) amazonensis*[J]. Vet Parasitol, 2006, 139(13):37-46.
- [13] Price J E, Dolan T T. A comparison of the efficacy of imidocarb dipropionate and tetracycline hydrochloride in the treatment of canine ehrlichiosis[J]. Vet Rec, 1980, 107(12):275-277.
- [14] Hung A L C. Chemotherapeutic efficacy of imidocarb dipropionate on experimental *Eperythrozoon ovis* infection in sheep[J]. Trop Anita Hlth Prod, 1986, 18:97-102.
- [15] Su D, Li X B, Wang Z J, *et al.* Pharmacokinetics and bioavailability of imidocarb dipropionate in swine[J]. J Vet Pharmacol Therap, 2007, 30:366-370.
- [16] 戴国华,赵英举,杨华,等. 抗梨形虫新药咪唑苯脒合成与结构确证的研究[J]. 中国兽医学报, 1986, 7(2):109-114.
Dai G H, Zhao Y J, Yang H, *et al.* The study on synthesis and structure of a new antibabesial drug-imidocarb[J]. Chinese Journal of Veterinary Science, 1986, 7(2):109-114.
- [17] 张永梅,高金宝,张观斗,等. 国产咪唑苯脒对小鼠和水牛人工感染伊氏锥虫病的治疗试验[J]. 兽医大学学报, 1990, 10(1):17-19.
Zhang Y M, Gao J B, Zhang G D, *et al.* Using domestic imidocarb to treat mice and buffaloes experimentally infested with trypanosoma evansi[J]. Bulletin of Veterinary College of PLA, 1990, 10(1):17-19.
- [18] Siddra A Hines, Joshua D Ramsay, Lowell S Kappmeyer, *et al.* *Theileria equi* isolates vary in susceptibility to imidocarb dipropionate but demonstrate uniform *in vitro* susceptibility to a bumped kinase inhibitor[J]. Parasites & Vectors, 2015, 8:33.
- [19] 苏玲,唐建华,毕海林,等. 抗牛羊血液原虫药物的研究概况[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2018(8):174-176.
Su L, Tang J J, Bi H L, *et al.* Study on drugs against blood protozoa of cattle and sheep[J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2018(8):174-176.
- [20] 李光壁. 咪唑苯脒-一种抗巴贝西虫新药[J]. 吉林畜牧兽医, 1986(3):41-43.

- Li G B. Imidocarb – a new drug against babesiasis [J]. Jilin Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 1986(3):41–43.
- [21] 国家食品药品监督管理总局. 药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则 2014 年版[S].
- State Food and Drug Administration. Technical guidelines for drug irritation, allergic and hemolytic studies 2014 edition[S].
- [22] 张倩. 中试加米霉素注射液体外抑菌试验及实验动物安全性评价[D]. 新疆:石河子大学, 2017.
- Zhang Q. Bacteriostatic test *in vitro* and the experimental animal safety evaluation of gamithromycin [D]. Xinjiang: Shihezi University, 2017.
- [23] 周业敏, 王永超. 抗原虫药物种类及其临床应用研究[J]. 中国农村卫生, 2016(2):40.
- Zhou M, Wang Y C. Study on drug types and clinical application of antigens[J]. China Rural Health, 2016 (2):40.
- [24] 宋彦, 何国, 陈纯梅, 等. 动物抗原虫药的种类及应用[J]. 养殖技术顾问, 2011, (6):222.
- Song Y, He G, Chen C M, *et al.* Species and application of animal antigens[J]. Technical Advisor for Animal Husbandry, 2011(6):222.
- [25] 黄显晔. 奶牛梨形虫病的流行、诊断与治疗措施[J]. 现代畜牧科技, 2016(5):160.
- Huang X Y. The prevalence, diagnosis and treatment of cow pear-shaped worm disease [J]. Technical Advisor for Animal Husbandry, 2016 (5):160.
- [26] 王红军. 犬巴贝西虫病的诊治[J]. 畜牧兽医科技信息, 2011(9):118.
- Wang H J. Diagnosis and treatment of canine babesiosis [J]. Animal Husbandry and Veterinary Technology Information, 2011 (9):118.
- [27] 何维春, 张岚峰. 组织滴虫病的治疗药物筛选[J]. 中国兽医科技, 1994, 24(12):36–37.
- He W C, Zhang L F. Screening of therapeutic drugs for tissue trichomoniasis [J]. Chinese Journal of Veterinary Science and Technology, 1994, 24(12):36–37.
- [28] Vos A J D, Dalgliesh R J, McGregor W. Effect of imidocarb dipropionate prophylaxis on the infectivity and immunogenicity of a *Babesia bovis* vaccine in cattle [J]. Australian Veterinary Journal, 1986, 63(6):174–178.
- [29] Ehimiyein A M, Abdullahi S U, Ayo J O, *et al.* Ameliorative effects of alpha-lipoic acid and imidocarb dipropionate on clinico-haematological changes induced by experimental *Babesia canis vogeli* infection in dogs [J]. Comparative Clinical Pathology, 2019;28:1119–1135.

(编辑:李文平)