doi:10.11751/ISSN.1002－1280.2019.07.08

复方芩兰口服液长期毒性试验研究

贾　兴[1,2],刘　欣[1,2],魏丽娟[1,2],耿志霞[1,2],瞿红颖[1,2],宋婷婷[1,2],刘　静[1,2],魏占勇[1,2],史万玉[3]

(1.河北远征药业有限公司,石家庄 050041;2.河北省兽药工程技术研究中心,石家庄 050041;3.河北农业大学,保定 071000)

[收稿日期] 2019－02－28　[文献标识码]A　[文章编号]1002－1280(2019)07－0049－07　[中图分类号]S853.74

[摘　要]　为了考察复方芩兰口服液的安全性,以大鼠为试验动物,分别在其饮水中连续添加 20 mL/L(拟推荐剂量 10 倍)、40 mL/L(拟推荐剂量 20 倍)、80 mL/L(拟推荐剂量 40 倍)的复方芩兰口服液,对其长期毒性进行了为期 4 周的饲喂考察。结果显示,复方芩兰口服液的所有用药组大鼠,在为期 28 d 的试验过程中,其临床表现、增重及饲料利用、脏器指数、血液学常规、血液生化检查及组织病理学六方面均与对照组无显著差异($P>0.05$),表明该药长期使用是安全的。

[关键词]　复方芩兰口服液;长期毒性;大鼠

Chronic Toxicity Study of Fufang Qinlan Oral Liquid

JIA Xing[1,2], LIU Xin[1,2], WEI Li－juan[1,2], GENG Zhi－xia[1,2], QU Hong－ying[1,2], SONG Ting－ting[1,2], LIU Jing[1,2], WEI Zhan－yong[1,2], SHI Wan－yu[3]

(1. *HebeiYuanzhoang Phamaceutical CO.*, *LTD*, *Shijiazhuang* 050041, *China*;
2. *Hebei Engineering Research Center of Veterinary*, *Shijiazhuang* 050041, *China*; 3. *Hebei AgriculturalUniversity*, *Baoding* 071000, *China*)

Abstract: In order to investigate the safety of Fufang Qinlan Oral Liquid, rats were used as test animals. In clinical toxicity trials, Fufang Qinlan Oral Liquid was continuously added in drinking water with the concentration of 20 mL/L(10 times recommended dose), 40 mL/L(20 times recommended dose), and 80 mL/L(40 times recommended dose). This clinical trials lasted 4 weeks. The results showed that clinical manifestation, weight gain, feed utilization, organ index, hematology routine, blood biochemical examination and histopathology of the experimental group were not significantly different from the control group ($P>0.05$). It is indicated that Fufang Qinlan Oral Liquid is safe and can be used in clinical trials.

Key words: Fufang Qinlan Oral Liquid;chronic toxicity;rats

复方芩蓝口服液为纯中药制剂,由金银花、黄芩、连翘、板蓝根四味中药组成,用于外感风热引起的发热、咳嗽、咽痛[1-3]。为了考察复方芩兰口服液临床上长时间应用的安全性,对该制剂进行了长

作者简介:贾　兴,工程师,药物制剂,1975188508@qq.com

期毒性试验研究[4]。本试验通过将复方芩兰口服液在一定时间内连续高剂量给试验动物反复饮喂,观察动物出现损害的靶组织或靶器官及剂量效应关系,并了解试验动物对复方芩兰口服液能够耐受的剂量范围,从而为评价复方芩兰口服液能否安全应用于临床提供科学依据,以保证用药安全。

1　材料与方法

1.1　试验动物　3 周龄清洁级 Wistar 大鼠 80 只,雌雄各半,购自斯贝福(北京)生物科技有限公司(许可证号 SCXK(京)2016 - 0002)。大鼠购入后观察饲养一周,投入试验。

1.2　主要药物及试剂　复方芩兰口服液:河北远征药业有限公司生产的中试产品(每 mL 相当于原生药 1.25 g,批号:170701)。

天门冬氨酸氨基转移酶试剂盒(产品批号 20161108)、丙氨酸氨基转移酶试剂盒(产品批号 20161028)、肌酐试剂盒(产品批号 20161205)、血清白蛋白测定试剂盒(产品批号 20161205)、总胆固醇测定试剂盒(产品批号 20161108)、甘油三酯试剂盒(产品批号 20161205)等购于南京建成生物技术有限公司,尿素氮试剂盒(产品批号 201611125)、血糖测定试剂盒(产品批号 20161125)等购于北京百智生物科技有限公司,总蛋白测定试剂盒(产品批号 20161020)购自于美国 Thermo 公司。

1.3　主要仪器设备　BC - 2800Vet 兽用全自动血液细胞分析仪(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);半自动生化分析仪(荷兰图威技术有限公司);全波长酶标仪(美国 BioTek 公司制造);OLYMPUS生物显微镜(日本制造);KD - 202 轮转式切片机(浙江省金华市科迪仪器设备有限公司);电子天平,型号:Precisa 92SM - 202A。

1.4　试验动物及给药方法选择　为了全面评价受试药物复方芩兰口服液的长期毒性,进行为期 4 周饲喂试验(由于本制剂临床拟推荐用药期为 5 ~ 7 d);给药方法理应灌胃给药,但考虑到长达 28 d 的灌胃可能会造成大鼠食道及胃的损伤,也可能引起应激反应,进而影响试验结果;而经前期的预试验得到复方芩兰口服液在大鼠饮水中加到 8%(即 80 mL/L)时,不会影响大鼠饮水量,且此剂量能满足长期毒性试验的剂量要求,故确定以饮水方式给药,最大剂量定为 80 mL/L(即拟推荐剂量的 40 倍)。

1.5　试验分组　体重(75 ± 5)g Wistar 大鼠 80 只,雌雄各半,随机选择分为 4 组(3 个受试药物不同剂量组与 1 个不用药对照组),每组雌雄各 10 只。完成随机分组后,对每组大鼠用结晶紫在不同部位进行染色编号标记。分笼饲养。

1.6　试验剂量及给药方式　试验设置高、中、低三个剂量以及一个空白对照组,其中高剂量组为含 8% 复方芩兰口服液的饮水(即 80 mL/L 为拟推荐用量的 40 倍);中剂量组为含 4% 复方芩兰口服液的饮水(即 40 mL/L 为拟推荐用量的 20 倍);低剂量组为含 2% 复方芩兰口服液的饮水(即 20 mL/L 为拟推荐用量的 10 倍)。动物分笼饲养,将受试药物混匀于饮水中,连续饮用 28 d,采食不限。

2　观察指标与测定方法

2.1　临床表现　每天观察各组大鼠的活动、采食、饮水及发病情况。包括被毛是否贴身或稀疏竖散,是否神态萎靡、蜷缩不动、过度兴奋、躁动惊跳、肌肉麻痹或震颤、步态异常。出现中毒反应的大鼠取出单笼饲养,发现死亡或濒死大鼠及时剖检。

2.2　体重、采食情况测定　分别于给药后的 7、14、21 和 28 d 对各组大鼠进行称重,比较其体重变化情况;每天记录各组的饲料添加量,于给药后的第 7、14、21、28 d 测定各组的饲料剩余量,计算各组每周大鼠的平均采食量。

2.3　血液理化指标测定　于给药 28 d 后,每组 20 只大鼠(雌雄各半)摘眼球采血,用血液细胞分析仪测定白细胞计数及分类、红细胞计数、血红蛋白含量测定。分离血清,用试剂盒测定 AST、ALT、BUN、CRE、ALB、TP、CHOL、GLU、TG 等血液生化指标。

2.4　脏器指数测定　上述于 28 d 后摘除眼球取血的大鼠,取血后剖检,称量心、肝、脾、肾、肺的重量,计算各脏器指数。称量前用滤纸吸干表面水分。脏器指数 = 脏器湿重(g)/体重(g) × 100。

2.5　主要脏器剖检与组织学检查　将对照组和高剂量组的试验大鼠及剖检异常的试验大鼠进行详细检查,其它剂量组的试验大鼠同时取材保存,当高剂量组检查有异常病变时再进行检查。受检的脏器为:心、肝、脾、肺、肾、胃、小肠、大肠、卵巢、睾丸。

2.6　数据处理　用 SPSS 19.0 进行单因素方差分析,采用多个试验组和一个对照组间的两两比较方法统计。

3　结果与分析

3.1　各组大鼠临床表现观察　在整个试验过程观察并记录高、中、低剂量试验组和对照组大鼠的毛色洁净度,四肢、眼和瞳孔、摄食、饮水,粪便以及皮肤有无过敏反应。结果均未见异常。

3.2　复方芩兰口服液对大鼠体重的影响　由表 1 结果可以看出,试验开始时各试验组间大鼠的体重均无显著差异($P>0.05$),连续用药后的 7、14、21 和 28 d,复方芩兰口服液高、中、低剂量组大鼠的体重与对照组间也均无显著差异($P>0.05$),表明以拟推荐剂量的 40 倍(80 mL/L)连续给药 4 周,对大鼠的体重无明显影响。

表 1　复方芩兰口服液对各组大鼠体重的影响($\bar{x}\pm SD$)

Tab 1　The effect of Fufang Qilan Oral Liquid on body weight of rats in each group ($\bar{x}\pm SD$)

性别	组别	用药 0 d	用药 7 d	用药 14 d	用药 21 d	用药 28 d
♂	低剂量组	75.74 ± 3.00	148.11 ± 14.18	199.91 ± 7.66	257.89 ± 15.77	308.65 ± 8.69
	中剂量组	77.67 ± 2.50	148.92 ± 12.77	202.72 ± 10.27	257.31 ± 17.95	303.27 ± 11.02
	高剂量组	78.19 ± 1.85	153.40 ± 17.33	202.61 ± 10.30	257.18 ± 18.46	305.34 ± 10.4
	对照组	75.95 ± 3.20	150.78 ± 18.88	199.95 ± 12.61	262.60 ± 18.95	306.2 ± 11.49
♀	低剂量组	73.61 ± 2.75	128.79 ± 18.21	157.68 ± 8.72	187.06 ± 15.76	203.67 ± 11.32
	中剂量组	73.46 ± 3.67	129.32 ± 20.54	159.51 ± 6.92	186.49 ± 14.43	198.00 ± 9.04
	高剂量组	74.58 ± 2.99	126.03 ± 19.68	158.96 ± 14.82	187.85 ± 16.04	207.34 ± 9.00
	对照组	73.45 ± 3.57	125.84 ± 15.83	157.22 ± 6.90	188.07 ± 14.78	200.66 ± 10.76

注:同一列标记不同小写字母代表差异显著($P<0.05$);无不同字母代表差异不显著($P>0.05$)

Note: Different lowercase letters in the same columnindicated that the difference was significant ($P<0.05$); No different letters indicated that the difference was not significant ($P>0.05$).

3.3　复方芩兰口服液对大鼠采食量的影响　由表 2 结果可以看出,各受试药物组和不用药对照组大鼠的每周平均采食量基本一致,无差异。表明复方芩兰口服液对大鼠的采食量无明显影响。

表 2　复方芩兰口服液对各组大鼠采食量的影响

Tab 2　The effect of Fufang Qilan Oral Liquid on feed intake of rats in each group

性别	组别	第 1 周平均采食量(g/天/只)	第 2 周平均采食量(g/天/只)	第 3 周平均采食量(g/天/只)	第 4 周平均采食量(g/天/只)
♂	低剂量组	51.43	71.81	90.59	110.92
	中剂量组	51.38	71.64	90.82	111.45
	高剂量组	51.35	71.36	91.12	111.72
	对照组	51.17	71.54	90.48	112.72
♀	低剂量组	45.99	54.48	66.25	71.86
	中剂量组	46.41	55.67	66.95	71.89
	高剂量组	44.41	56.22	66.58	71.30
	对照组	45.63	54.67	66.25	72.44

3.4　复方芩兰口服液对大鼠主要脏器指数的影响　由表 3 结果可以看出,复方芩兰口服液高、中、低剂量组大鼠的肝指数、脾指数、肾指数、心指数和肺指数均与不用药对照组无显著差异($P>0.05$),受试药物以拟推荐剂量的 40 倍(80 mL/L)连续给药 4 周,未见对大鼠的主要脏器指数造成明显影响。

表 3　复方芩兰口服液对大鼠主要脏器指数的影响结果($\bar{x}\pm SD$)

Tab 3　The effect of Fufang Qilan Oral Liquid on the main organ index of rats ($\bar{x}\pm SD$)

性别	测定指标	低剂量组	中剂量组	高剂量组	不用药对照组
♂	肝指数	3.015 ±0.199	3.067 ±0.209	3.113 ±0.165	3.185 ±0.190
	脾指数	0.312 ±0.017	0.324 ±0.010	0.320 ±0.025	0.318 ±0.025
	肾指数	0.832 ±0.043	0.850 ±0.081	0.837 ±0.05	0.848 ±0.050
	心指数	0.419 ±0.041	0.432 ±0.023	0.436 ±0.025	0.434 ±0.037
	肺指数	0.494 ±0.020	0.492 ±0.029	0.501 ±0.031	0.497 ±0.032
♀	肝指数	3.201 ±0.151	3.274 ±0.307	3.078 ±0.346	3.129 ±0.220
	脾指数	0.310 ±0.036	0.322 ±0.023	0.303 ±0.032	0.311 ±0.024
	肾指数	0.892 ±0.062	0.908 ±0.073	0.864 ±0.045	0.879 ±0.055
	心指数	0.450 ±0.020	0.441 ±0.042	0.425 ±0.047	0.441 ±0.018
	肺指数	0.555 ±0.057	0.568 ±0.064	0.548 ±0.038	0.548 ±0.050

注:同一行标记不同小写字母代表差异显著($P<0.05$);无不同字母代表差异不显著($P>0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same columnindicated that the difference was significant ($P<0.05$); No different letters indicated that the difference was not significant ($P>0.05$).

3.5　试验大鼠血液常规指标结果　由表 4 结果可以看出,复方芩兰口服液高、中、低剂量组大鼠的红细胞总数、白细胞总数、血红蛋白、淋巴细胞百分率、单核细胞百分率、嗜中性粒细胞百分率、嗜酸性粒细胞百分率和嗜碱性

粒细胞百分率均与不用药对照组无显著差异($P>0.05$),表明以拟推荐剂量的 40 倍(80 mL/L)连续给药 4 周,对大鼠的血常规无明显影响。

表 4　复方芩兰口服液对大鼠血液常规指标的影响结果($\bar{x}\pm SD$)

Tab 4　The effect of Fufang Qilan Oral Liquid on blood routine indexes of rats

性别	组别	白细胞 WBC ($\times10^9$/L)	红细胞 RBC (10^{12}/L)	血红蛋白 Hb (g/L)	淋巴细胞 Lymph (%)	单核细胞 Mon (%)	嗜中性粒细胞 Neu (%)	嗜酸性粒细胞 Eos (%)	嗜碱性粒细胞 Bas (%)
♂	低剂量组	7 ±1.89	7.34 ±1.19	148.02 ±22.34	74.17 ±2.33	2.43 ±0.49	20.2 ±1.43	2.22 ±0.77	0.98 ±0.47
	中剂量组	7.31 ±1.17	7.41 ±0.85	145.84 ±16.95	72.26 ±1.28	2.27 ±0.38	22.05 ±1.31	2.6 ±0.72	0.82 ±0.21
	高剂量组	7.47 ±1.19	7.41 ±0.71	153.34 ±12.57	72.22 ±1.86	2.4 ±0.37	22 ±1.47	2.45 ±0.54	0.93 ±0.52
	对照组	7.05 ±1.31	7.48 ±1.22	155.01 ±22.03	73.48 ±3.57	2.41 ±0.32	21.15 ±2.97	2.07 ±0.88	0.89 ±0.22
♀	低剂量组	7.02 ±1.77	7.54 ±1.05	152.08 ±20.02	73.27 ±3.35	2.6 ±0.95	20.48 ±2.46	2.66 ±0.69	0.99 ±0.26
	中剂量组	7.54 ±1.48	7.07 ±0.89	149.16 ±18.99	72.57 ±2.78	2.45 ±0.45	21.77 ±1.99	2.3 ±0.65	0.91 ±0.6
	高剂量组	7.47 ±1.14	7.67 ±0.8	153.66 ±14.87	72.84 ±3.79	2.38 ±0.42	21.26 ±2.44	2.55 ±1.09	0.97 ±0.52
	对照组	7.71 ±1.15	7.63 ±0.75	152.7 ±12.94	73.32 ±1.92	2.42 ±0.41	20.81 ±1.44	2.47 ±0.47	0.98 ±0.3

注:同一行标记不同小写字母代表差异显著($P<0.05$);无不同字母代表差异不显著($P>0.05$)。

Note: Different lowercase letters in the same columnindicated that the difference was significant ($P<0.05$); No different letters indicated that the difference was not significant ($P>0.05$).

3.6　试验动物血液生化指标检测结果　由表 5 可以看出,复方芩兰口服液高、中、低剂量组大鼠的门冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、尿素氮(BUN)、肌酐(CRE)、血清白蛋白(ALB)、总蛋白(TP)、总胆固醇(CHOL)、血糖(GLU)和甘油三酯(TG)均与不用药对照组无显著差异($P>0.05$),表明以临床推荐剂量的 40 倍(80 mL/L)连续给药 4 周,对大鼠的血常规无明显不良影响。

表 5　复方芩兰口服液对大鼠血液生化指标的影响结果($\bar{x}\pm SD$)

Tab 5　The effect of Fufang Qilan Oral Liquid on blood biochemical parameters of rats

性别	指标	低剂量组	中剂量组	高剂量组	对照组
	AST(IU/L)	142.50 ±26.33	143.4 ±18.28	139.6 ±21.47	145.1 ±22.1
	ALT(IU/L)	45.45 ±6.38	42.3 ±5.75	45.98 ±6.09	47.97 ±5.56
	BUN(mmol/L)	8.94 ±1.00	8.68 ±1.30	8.79 ±0.95	8.11 ±1.21
	CRE(μmol/L)	44.05 ±3.66	43.95 ±3.63	43.44 ±3.80	45.82 ±3.63
♂	ALB(g/L)	40.10 ±3.70	40.50 ±3.60	40.00 ±3.30	40.00 ±2.90
	TP(g/L)	76.00 ±5.60	77.60 ±5.40	76.50 ±5.30	74.70 ±4.60
	CHOL(mmol/L)	2.09 ±0.25	2.04 ±0.27	1.89 ±0.48	2.02 ±0.23
	GLU(mg/dl)	6.79 ±0.84	6.87 ±0.64	6.79 ±0.79	6.50 ±0.91
	TG(mmol/L)	1.80 ±0.47	1.72 ±0.50	2.01 ±0.27	1.74 ±0.39
	AST(IU/L)	146.10 ±23.72	147.60 ±21.34	144.30 ±22.22	149.00 ±23.25
	ALT(IU/L)	43.28 ±4.48	44.35 ±5.62	45.36 ±5.21	46.05 ±7.75
	BUN(mmol/L)	8.98 ±1.40	8.48 ±1.06	8.49 ±1.00	8.97 ±1.40
	CRE(μmol/L)	44.64 ±3.68	42.85 ±3.82	42.28 ±3.47	45.57 ±3.67
♀	ALB(g/L)	35.00 ±4.30	36.80 ±4.60	37.10 ±3.80	35.50 ±3.60
	TP(g/L)	73.20 ±6.30	70.30 ±5.90	71.60 ±6.30	70.50 ±6.80
	CHOL(mmol/L)	2.10 ±0.34	2.15 ±0.22	2.05 ±0.36	2.06 ±0.26
	GLU(mg/dl)	7.22 ±0.72	7.28 ±0.73	6.91 ±0.84	7.08 ±0.70
	TG(mmol/L)	2.04 ±0.23	2.01 ±0.27	1.88 ±0.38	1.92 ±0.42

注:AST:门冬氨酸氨基转移酶;ALT:丙氨酸氨基转移酶;BUN:尿素氮;CRE:肌酐;ALB:血清白蛋白;TP 总蛋白、CHOL 总胆固醇;GLU:血糖;TG:甘油三酯。同一行标记不同小写字母代表差异显著($P<0.05$);无不同字母代表差异不显著($P>0.05$)。

Note: AST: Aspartate aminotransferase; ALT: Alanine aminotransferase; BUN: Urea nitrogen; CRE: Creatinine; ALB: Serum albumin; TP: Total protein; CHOL: Total cholesterol; GLU: Blood glucose; TG: Triglyceride. Different lowercase letters in the same columnindicated that the difference was significant ($P<0.05$); No different letters indicated that the difference was not significant ($P>0.05$)

3.7　试验大鼠病理组织学检查结果　试验结束后对各组大鼠进行捕杀剖检,肉眼进行病理学观察。主要观察心、肝、脾、肺、肾等主要脏器的外形、体积、色泽是否正常,有无充血、出血、肿胀和坏死等异常现象。结果发现,各用药组与对照组大鼠的心、肝、脾、肺、肾等主要脏器均未见任何异常。

取高剂量组和对照组大鼠的心、肝、脾、肺、肾、胃、小肠、卵巢、睾丸等脏器以福尔马林固定,石腊切片,镜检各脏器的组织学结构变化(图 1 ~ 图 2)。结果发现,高剂量组与对照组大鼠的心、肝、脾、肺、

肾、胃、小肠、卵巢及睾丸组织学结构清楚,未见明显异常。

结果表明,受试药物以拟推荐剂量的 40 倍(80 mL/L)连续给药 4 周,未见对大鼠主要脏器外观形态及组织结构造成明显影响。

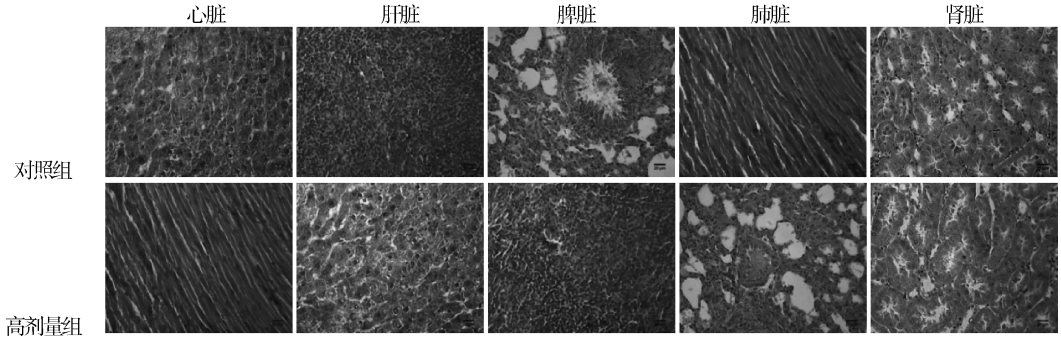

图 1　大鼠主要脏器组织病理学(40 ×)

Fig 1　The main organs of rats histopathology (40 ×)

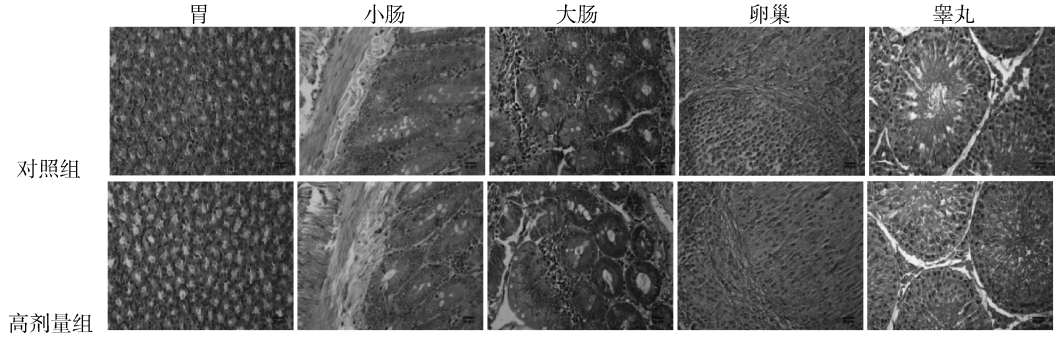

图 2　大鼠主要脏器组织病理学(40 ×)

Fig 2　The main organs of rats histopathology (40 ×)

4　讨论与结论

中兽医认为传染病为瘟病,病邪自口鼻而入,不在腑脏外,不在经络舍,于夹脊之内。肺为娇脏,易感风邪,易受六淫侵犯,继而感受多种疫病而发病[3]。鸡传染性喉气管炎是由瘟疫之毒犯肺引起的一种肺热咳喘之症[5-6]。复方芩蓝口服液四种药材合用,共奏清热解毒、宣肺平喘、利咽消肿之功效,用于多种原因引起的发热、咳嗽、咽喉肿痛的防治。根据兽药研究技术指导原则[7],探究了复方芩蓝口服液的安全性。

长期毒性试验即反复给药的毒性试验,在实验过程中需要观察动物在反复给药过程中的毒性反应,了解药物剂量与中毒程度的关系及毒性反应的安全剂量。在药物安全评价中,由于药物作用的影响,常会引起动物一些器官质量的减低,根据脏器系数来检验动物的脏器是否受到药物的不良影响[8]。本试验通过将复方芩兰口服液在一定时间内连续高剂量给试验动物反复饮喂,观察动物出现损害的靶组织或靶器官及剂量效应关系,了解试验动物对复方芩兰口服液能够耐受的剂量范围,从而为评价复方芩兰口服液能否安全应用于临床提供科学依据,以保证用药安全。

长期毒性试验结果表明,复方芩蓝口服液以 20、40、80 mL/L 剂量连续用药 28 d,在观察期内未见大鼠有不良反应,精神状态良好、饮食正常,各剂量组对主要脏器的脏器指数未见明显的影响,对试验大鼠心、肝、脾、肺、肾等主要脏器未见肉眼及组织学病理变化。

血液生理指标是判定药物毒性的重要指标[9]，血液生化指标判定了药物对主要脏器毒性作用[10]。长期毒性试验结果表明，整个过程中受试药物的三个剂量组的血液学常规、血液生化各项指标测定结果均与对照组无显著差异（$P>0.05$），受试药物对试验动物大鼠未显现任何毒性反应，表明复方芩兰口服液是安全、无毒性的中兽药制剂，可以安全的用于临床。

参考文献：

[1] 国家药典委员会. 中国药典一部[M]. 北京：中国医药科技出版社，2015，1225.
National Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia [M]. Beijing：China Medical Science Press, 2015，1225.

[2] 段文龙，梁先明. 兽药研究技术指导原则汇编（2006—2011 年）[M]. 北京：化学工业出版社，2013，3.
Duan W L，Liang X M. A Compilation of Technical Guidelines for Veterinary Drug Research (2006 - 2011) [M]. Beijing：Chemical Industry Press，2013：3.

[3] 于 船. 中兽医学（第二版）[M]. 北京：中国农业出版社，1999，16 - 22.
Yu C. Chinese Veterinary Medicine (Second Edition) [M]. Beijing：China Agriculture Press，1999，16 - 22.

[4] 兽药试验技术规范汇编[Z]. 2001：5.
The Office of the Veterinary Drug Review Committee of the Ministry of Agriculture[Z]. 2001：5.

[5] 殷 震，刘景华. 动物病毒学（第二版）[M]. 北京：科学出版社，1997，1066 - 1073.
Yin Z, Liu J H. Animal Virology (Second Edition) [M]. Beijing：Science Press, 1997，1066 - 1073.

[6] 王云峰，石星明，王 玫，等. 鸡传染性喉气管炎研究进展[J]. 兽医导刊，2008，135（11）：26 - 29.
Wang Y F, Shi X M, Wang M, *et al*. Research progress of avian infectious laryngotracheitis [J]. Veterinary Orientation, 2008, 135(11)：26 - 29.

[7] 农业部兽药评审中心. 兽药研究技术指导原则汇编[M]. 北京：化学工业出版社，2012.
Veterinary Drug Assessment of Ministry of Agriculture. Veterinary Drug Test Regulation Assemble[M]. Beijing：Chemical Industry Press，2012.

[8] 杨 慧，孙耀贵，孙 娜，等. 板芪口服液急性毒性及长期毒性实验研究[J]. 中国兽药杂志，2019，（3）：79 - 85.
Yang H, Sun Y G, Sun N, *et al*. Acute toxicity and chronic toxicity study of Banqi Oral Liquid [J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2019, (3)：79 - 85.

[9] 喻 琴，陈 玲，尹伶灵，等. 鱼腥草芩兰口服液的毒理学研究[J]. 中国兽药杂质，2018，09：27 - 34.
Yu Q, Chen L, Yin L L, *et al*. Toxicity of Yuxingcao Qinlan Oral Liquid[J]. Chinese Journal of Veterinary Drug, 2018, 09：27 - 34.

[10] 李 晓，郭 唯，陈 飞，等. 连翘叶不同提取物的急性毒性实验研究[J]. 饲料研究，2013，01：11 - 12.
LiX，Guo W，Chen F，*et al*. Experimental study on acute toxicity of different extracts of Forsythia Suspensa[J]. Feed Research, 2013, 01：11 - 12.

（编 辑：陈 希）