

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2024.04.10

卡洛芬注射液对靶动物奶牛安全性试验研究

宋婷婷^{1,2}, 任丽花^{1,2}, 刘静^{1,2*}, 耿智霞^{1,2}, 贾兴^{1,2}, 郭李珉^{1,2},
刘欣^{1,2}, 魏占勇^{1,2}, 曹兴元³

(1. 河北远征药业有限公司, 石家庄 050041; 2. 河北省兽药技术创新中心, 石家庄 050041; 3. 中国农业大学, 北京 100083)

[收稿日期] 2023-06-30 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2024) 04-0076-09 [中图分类号] S859.796

[摘要] 为研究卡洛芬注射液对靶动物奶牛的安全性, 将 20 头健康奶牛随机分为 4 组, 每组 5 头, 各组试验奶牛分别按 0、1 倍推荐剂量 (1.4 mg/kg B. W.)、3 倍推荐剂量 (4.2 mg/kg B. W.)、5 倍推荐剂量 (7.0 mg/kg B. W.) 单剂量皮下注射卡洛芬注射液, 连续给药 3 d。试验期间观察记录各组奶牛的饮食、精神、粪便情况及试验前后的体重变化, 测定给药前、给药后第 1 天及给药后第 3 天各组奶牛的血液生理生化指标, 同时在给药后第 3 d 进行剖检, 测定脏器指数, 观察病理及组织学变化。结果显示, 卡洛芬注射液各剂量组奶牛的临床体征、血液生理生化指标、剖检及组织显微结构等均未见明显异常, 未出现中毒症状及死亡。与对照组相比, 3 倍剂量组和 5 倍剂量组血液生理指标中血小板平均宽度差异显著 ($P < 0.05$), 5 倍剂量组血液生化指标白蛋白数量明显增加 ($P < 0.05$), 但所有指标均在正常范围内波动。结果表明, 卡洛芬注射液在临床上推荐以 1.4 mg/kg B. W. 给药对靶动物奶牛是安全的。

[关键词] 卡洛芬注射液; 奶牛; 安全性

Target Animal Safety Study on Carprofen Injection in Cows

SONG Ting-ting^{1,2}, REN Li-hua^{1,2}, LIU Jing^{1,2*}, GENG Zhi-xia^{1,2}, JIA Xing^{1,2}, GUO Li-min^{1,2},
LIU Xin^{1,2}, WEI Zhan-yong^{1,2}, CAO Xing-yuan³

(1. HeBei Yuanzheng Pharmaceutical Co., Ltd., Shijiazhuang 050041, China; 2. Hebei Technology Innovation Center of Veterinary Drugs, Shijiazhuang 050041, China; 3. China Agricultural University, Beijing, 100083, China)

Corresponding author: LIU Jing, E-mail: 340466336@qq.com

Abstract: In order to evaluate the target animal safety on carprofen injection in cow, 20 healthy cows were divided into four groups randomly, each group was given carprofen injection at a single dose of 0, recommended dosage (1.4 mg/kg B. W.), 3 times of recommended dosage (4.2 mg/kg B. W.) and 5 times of recommended dosage (7.0 mg/kg B. W.) respectively. Mental state, feed intake, water drinking and fecal examination were observed and recorded daily throughout the experimental period, and the body weight changes during the

作者简介: 宋婷婷, 高级兽医师, 从事药物制剂研究。

通讯作者: 刘静。E-mail: 340466336@qq.com

experiment were recorded. Before administration and twenty – four hours after the last administration, blood and serum sample were collected for hematological and biochemical assays. And selected organs were obtained for organ coefficients and histopathological analysis. The results showed that the clinical symptoms, blood biochemical and physiological indexes, dissection and tissue microstructure of different dose groups of carprofen injection were found no significant abnormalities and no toxic symptoms or death were found. Compared with the control group, there was a significant difference in the average platelet width in blood physiological indicators between the 3 and 5 times of recommended dosage ($P < 0.05$). Significant increase in the number of blood biochemical indicators albumin in the 5 times of recommended dosage ($P < 0.05$). However, all indicators fluctuate within the normal range. In conclusion, the recommended dose (1.4 mg/kg B. W) of carprofen injection was safe to cow.

Key words: carprofen injection; cow; safety

卡洛芬(carprofen)是 2-芳基丙酸类非甾体抗炎药(NSAIDs),为花生四烯酸级联酶环加氧酶的抑制剂,通过抑制前列腺素合成而发挥抗炎、镇痛、解热作用,具有吸收快、副作用小等特点。卡洛芬注射液于 20 世纪 70 年代由美国辉瑞公司开发,是高效的动物用抗炎药,已在美国、加拿大和欧洲多个国家广泛用于辅助治疗牛呼吸道疾病和急性乳腺炎。在使用抗菌药的同时联合使用卡洛芬注射液,可以快速缓解病牛发热并显著降低肺组织炎症反应^[1-3]。目前,该药物在我国还没有上市该产品。国外多年的生产、临床应用表明,卡洛芬注射液的质量可控、安全、有效,在动物呼吸道感染及奶牛乳房炎疾病防治中具有广阔的应用前景。为了全面评价本制剂在临床上使用的安全性,研究根据《兽药研究技术指导原则汇编》^[4],通过靶动物安全试验考察其用于靶动物奶牛的安全性及安全剂量范围,为临床试验给药方案的制定提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验药物 卡洛芬注射液由河北远征药业有限公司生产。规格 100 mL:5 g,批号:KLF020902。

1.2 试验动物 20 头健康成年雄性奶牛由莱西市众合兴牧奶牛养殖场提供,试验期间严格按照管理标准进行饲养。

1.3 仪器设备 BS-240VET 全自动生化分析仪(迈瑞生物医疗电子股份有限公司);ProCyte Dx™ 全自动五分类血细胞分析仪(美国爱德士生物科技有限公司);RM2235 切片机、DM750 显微镜(配

D7i100 相机)购自 Leica;KD-BMII 生物组织包埋机、KD-BL 包埋冷冻台、KD-P 摊片机、KD-H 烘干机、KD-RS 组织生物处理染色机、KD-TS3B 组织脱水机均购自浙江省金华市科迪仪器设备有限公司。

1.4 主要试剂 苏木素(北京九州柏林生物科技有限公司);中性树胶(无锡市江原实业技贸总公司)、二甲苯、曙红 Y、乙醇等均购自国药集团化学试剂有限公司;生化试剂(深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司);生理试剂(美国爱德士生物科技有限公司)

1.5 动物分组与处理 在试验场所经过 7 天适应期,根据农业部关于靶动物安全试验的相关指南,对 20 头成年雄性荷斯坦奶牛,随机分为四组,每组 5 头,通过耳标进行标识。试验分组及给药方案见表 1。

1.6 试验观察指标

1.6.1 临床体征变化观察 整个动物试验期间,定期观察并记录各组奶牛的健康状况和临床表现,包括精神状态、行为表现、体温、呼吸频率、体重等。分别在给药前 0 天、首次给药后第 1 天、给药后第 3 天对各组奶牛的上述临床表现按给定标准进行评分。

1.6.2 血液生理指标 在试验开始给药前 0 日、首次给药后 1 日和 3 日对各组奶牛进行颈静脉采血,每个时间点每头奶牛采集大约 2 mL 血液样品,置于含有 EDTA-K2 的采血管中,4 h 内进行白细胞计数(WBC)、淋巴细胞计数(LYM)、红细胞计数

(RBC)、血红蛋白(HGB)、平均红细胞体积(MCV)、平均血红蛋白含量(MCH)、血小板计数(PLT)等血液生理指标测定。

1.6.3 血液生化指标 在试验开始给药前(0日)、首次给药后1日和3日对各组奶牛进行颈静脉采血,每个时间点每头奶牛采集大约3 mL血液样品,置于含有促凝剂/分离胶的采血管中,离心得到血清样品,进行肌酐(CREA)、尿素氮(BUN)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALKP)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)、葡萄糖(GLU)、甘油三酯(TG)、胆固醇(CHOL)等血液生化指标测定。

1.6.4 剖检与组织病理学检查 对试验过程中死亡奶牛、有明显异常表现奶牛、试验结束后(首次给药后第3天)随机选取空白对照组奶牛和5倍推荐

剂量组奶牛各2头进行剖检。若5倍推荐剂量组出现明显的剖检病理变化,对3倍推荐剂量组动物进行剖检。眼观各重要脏器病变情况。同时观察给药颈部肌内注射给药部分组织的病理学变化。对于所剖检的实验动物,分别取心脏、肝脏、肾脏、脾脏、注射部位等组织保存到10%中性缓冲福尔马林固定液中,制作病理切片,进行组织病理学检查。

1.6.5 数据统计与分析 按照农业农村部相关指南的推荐方法进行统计分析。血液生理生化指标数据

通过描述性统计学如平均值、标准偏差和样本量进行描述。通过IBM SPSS Statistics 25软件,用方差分析和多重比较来评判用药期间各组试验奶牛的临床指标、血液生理和生化指标变化,结合病理检查综合评价奶牛使用卡洛芬注射液的安全性。

表 1 试验分组及给药方案

Tab 1 The test group and drug administration			
组别	给药剂量	给药方式	数量/头
空白对照组	生理盐水 1.4 mg/kgB. W.	皮下注射给药	5
1×推荐剂量组	卡洛芬注射液 1.4 mg/kgB. W.	皮下注射给药	5
3×推荐剂量组	卡洛芬注射液 4.2 mg/kgB. W.	皮下注射给药	5
5×推荐剂量组	卡洛芬注射液 7.0 mg/kgB. W.	皮下注射给药	5

2 结果与分析

2.1 各剂量组奶牛临床表现比较 试验期间,一般观察试验动物行为未见异常、活动自如、皮毛光亮、口眼鼻耳无分泌物、摄食饮水正常、大便正常、尿色正常,未见任何明显毒副作用。不同组别奶牛体重、体温和呼吸频率均在正常参考值范围之内(表2、表3)。

表 2 试验各组体重情况(±SD)

Tab 2 Weight of each group in the trial (±SD)		
组别	给药前	给药后3 d
空白剂量组	502.90 ± 12.99	503.06 ± 12.96
1倍推荐剂量	504.80 ± 54.96	504.54 ± 54.98
3倍推荐剂量	506.04 ± 69.40	505.86 ± 69.55
5倍推荐剂量	492.12 ± 27.57	492.66 ± 28.17

表 3 试验各组体温、呼吸数情况(±SD)

Tab 3 Body temperature and Respiration of each group in the trial (±SD)				
观察项目	组别	给药前	给药后1 d	给药后3 d
体温(38.0~39.3)	空白剂量组	38.58 ± 0.37	38.48 ± 0.16	38.68 ± 0.32
	1×推荐剂量组	38.50 ± 0.42	38.30 ± 0.39	38.64 ± 0.40
	3×推荐剂量组	38.88 ± 0.35	38.66 ± 0.38	38.66 ± 0.55
	5×推荐剂量组	38.78 ± 0.50	38.66 ± 0.53	38.62 ± 0.43
呼吸数(12~16)	空白剂量组	14.60 ± 1.34	14.00 ± 1.41	14.20 ± 1.30
	1×推荐剂量组	14.60 ± 1.22	14.40 ± 1.52	15.20 ± 1.30
	3×推荐剂量组	15.20 ± 0.45	14.80 ± 1.30	14.60 ± 0.89
	5×推荐剂量组	15.00 ± 1.22	15.20 ± 1.30	15.20 ± 1.10

2.2 血液生理指标变化 结果表明,除个别动物外某个时间点,空白对照组和各给药剂量组的各项血液生理指标均在正常范围内。组内对比可知,随着试验的进行,3 倍剂量组和 5 倍剂量组中血小板平均宽度与对照组相比差异显著($P < 0.05$);其余血液生理学指标虽有异常,但为连续给药造成的影响。组间对比可知给药过程会使得中性粒细胞数明显降低、血小板数量增加(表 4、表 5、表 6)。

表 4 各组奶牛在给药前的血液生理指标值 (Mean ± SD, n = 5)

Tab 4 Blood physiological indexes of cows in each group before administration (Mean ± SD, n = 5)						
检测项目	单位	组别				正常范围
		空白对照组	1 倍剂量组	3 倍剂量组	5 倍剂量组	
WBC	10 ⁹ /L	7.38 ± 2.70	6.66 ± 2.20	7.35 ± 2.25	8.41 ± 1.91	4.00 ~ 12.00
Neu#	10 ⁹ /L	2.95 ± 1.00	3.01 ± 0.59	3.29 ± 0.70	3.55 ± 0.66	0.60 ~ 5.00
Lym#	10 ⁹ /L	3.74 ± 1.44	2.98 ± 1.65	3.40 ± 1.55	4.15 ± 1.13	1.50 ~ 9.00
Mon#	10 ⁹ /L	0.52 ± 0.26	0.51 ± 0.18	0.52 ± 0.17	0.55 ± 0.15	0.30 ~ 1.60
Eos#	10 ⁹ /L	0.18 ± 0.04	0.17 ± 0.05	0.14 ± 0.04	0.15 ± 0.05	0.00 ~ 2.00
Bas#	10 ⁹ /L	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.00 ~ 0.20
RBC	10 ¹² /L	8.42 ± 0.36	7.62 ± 1.68	7.98 ± 1.20	8.59 ± 0.26	5.00 ~ 10.10
HGB	g/L	107.60 ± 13.54	102.60 ± 19.35	107.20 ± 16.81	108.80 ± 13.57	80 ~ 150
HCT	%	31.66 ± 4.83	30.76 ± 6.00	32.06 ± 5.38	32.14 ± 4.51	24.0 ~ 46.0
MCV	fL	37.76 ± 6.84	41.30 ± 7.65	40.70 ± 7.19	37.40 ± 5.15	40.0 ~ 60.0
MCH	Pg	12.80 ± 1.92	13.72 ± 2.17	13.56 ± 1.96	12.62 ± 1.50	11.0 ~ 19.0
MCHC	g/L	340.40 ± 10.36	334.00 ± 10.39	335.40 ± 12.44	338.20 ± 7.50	300 ~ 370
PLT	10 ⁹ /L	360.40 ± 80.94	579.60 ± 402.92	241.40 ± 130.14	287.60 ± 103.09	120 ~ 820
MPV	fL	5.32 ± 0.58	5.56 ± 0.53	5.86 ± 0.71	5.32 ± 0.51	3.8 ~ 7.0
PDW		8.70 ± 1.89	8.00 ± 1.33	10.42 ± 1.91	9.06 ± 1.27	0.1 ~ 30.0
PCT	%	0.19 ± 0.05	0.33 ± 0.25	0.13 ± 0.06	0.15 ± 0.05	0.010 ~ 9.99

WBC:白细胞数;Neu:中性粒细胞数;Lym:淋巴细胞数;Mon:单核细胞数;Eos:嗜酸性粒细胞数;Bas:嗜碱性粒细胞数;RBC:红细胞数;HGB:血红蛋白;HCT:红细胞压积;MCV:红细胞平均体积;MCH:红细胞平均血红蛋白含量;MCHC:红细胞平均血红蛋白浓度;PLT:血小板计数;MPV:平均血小板体积;PDW:血小板分布宽度;PCT:血小板压积(下同)

表 5 各组奶牛在给药第一天的血液生理指标值 (Mean ± SD, n = 5)

Tab 5 Blood physiological indexes of cows in each group after 1 day administration (Mean ± SD, n = 5)						
检测项目	单位	组别				正常范围
		空白对照组	1 倍剂量组	3 倍剂量组	5 倍剂量组	
WBC	10 ⁹ /L	6.56 ± 2.35	5.71 ± 1.80	5.70 ± 1.71	6.05 ± 1.01	4.00 ~ 12.00
Neu#	10 ⁹ /L	3.13 ± 0.69	3.04 ± 0.46	3.11 ± 0.42	2.61 ± 0.39	0.60 ~ 5.00
Lym#	10 ⁹ /L	2.84 ± 1.54	2.13 ± 1.38	2.04 ± 1.37	2.98 ± 0.57	1.50 ~ 9.00
Mon#	10 ⁹ /L	0.44 ± 0.16	0.39 ± 0.07	0.40 ± 0.07	0.34 ± 0.11	0.30 ~ 1.60
Eos#	10 ⁹ /L	0.15 ± 0.02	0.15 ± 0.03	0.15 ± 0.05	0.12 ± 0.03	0.00 ~ 2.00
Bas#	10 ⁹ /L	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.00 ~ 0.20
RBC	10 ¹² /L	7.42 ± 0.36	7.02 ± 0.77	6.87 ± 0.81	8.18 ± 1.13	5.00 ~ 10.10
HGB	g/L	101.20 ± 3.11	102.40 ± 3.29	99.80 ± 3.96	115.20 ± 24.35	80 ~ 150
HCT	%	30.60 ± 1.22	31.04 ± 1.10	30.58 ± 0.87	35.00 ± 7.23	24.0 ~ 46.0
MCV	fL	42.02 ± 6.57	44.64 ± 4.90	44.90 ± 4.65	42.46 ± 3.64	40.0 ~ 60.0
MCH	Pg	13.86 ± 1.85	14.72 ± 1.41	14.66 ± 1.39	13.94 ± 1.27	11.0 ~ 19.0
MCHC	g/L	331.00 ± 9.57	329.80 ± 5.81	326.80 ± 4.87	328.80 ± 3.27	300 ~ 370
PLT	10 ⁹ /L	474.20 ± 342.30	217.40 ± 112.23	383.80 ± 481.15	160.20 ± 122.50	120 ~ 820
MPV	fL	5.66 ± 0.47	6.04 ± 0.48	6.06 ± 0.50	5.56 ± 1.46	3.8 ~ 7.0
PDW		7.90 ± 0.81	9.86 ± 1.93	10.42 ± 2.41	8.20 ± 2.85	0.1 ~ 30.0
PCT	%	0.27 ± 0.21	0.31 ± 0.06	0.23 ± 0.30	0.09 ± 0.07	0.010 ~ 9.99

表 6 各组奶牛在给药第三天的血液生理指标值 (Mean ± SD, n = 5)

Tab 6 Blood physiological indexes of cows in each group after 3 day administration (Mean ± SD, n = 5)						
检测项目	单位	组别				正常范围
		空白对照组	1 倍剂量组	3 倍剂量组	5 倍剂量组	
WBC	10 ⁹ /L	6.64 ± 1.63	7.14 ± 1.55	7.21 ± 0.08	7.15 ± 0.11	4.00 ~ 12.00
Neu#	10 ⁹ /L	3.37 ± 0.38	2.92 ± 0.69	2.78 ± 0.17	2.67 ± 0.09	0.60 ~ 5.00
Lym#	10 ⁹ /L	2.73 ± 1.43	3.56 ± 0.76	3.73 ± 0.16	3.84 ± 0.10	1.50 ~ 9.00
Mon#	10 ⁹ /L	0.44 ± 0.10	0.55 ± 0.09	0.57 ± 0.06	0.52 ± 0.04	0.30 ~ 1.60
Eos#	10 ⁹ /L	0.11 ± 0.03	0.10 ± 0.05	0.13 ± 0.04	0.12 ± 0.02	0.00 ~ 2.00
Bas#	10 ⁹ /L	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0.00 ~ 0.20
RBC	10 ¹² /L	7.49 ± 0.99	7.32 ± 1.47	7.72 ± 0.05	7.78 ± 0.03	5.00 ~ 10.10
HGB	g/L	105.80 ± 8.79	93.80 ± 19.06	102.80 ± 1.10	103.80 ± 0.45	80 ~ 150
HCT	%	32.40 ± 2.33	28.06 ± 3.16	31.02 ± 0.23	31.30 ± 0.12	24.0 ~ 46.0
MCV	fL	43.60 ± 3.58	38.50 ± 3.16	40.22 ± 0.44	40.22 ± 0.04	40.0 ~ 60.0
MCH	Pg	14.22 ± 1.05	12.86 ± 0.92	13.32 ± 0.11	13.36 ± 0.05	11.0 ~ 19.0
MCHC	g/L	326.40 ± 3.71	333.80 ± 9.65	331.40 ± 2.30	331.60 ± 0.89	300 ~ 370
PLT	10 ⁹ /L	106.00 ± 24.41	389.20 ± 52.87	380.40 ± 6.99	372.6 ± 5.64	120 ~ 820
MPV	fL	4.72 ± 1.33	5.40 ± 0.23	5.60 ± 0.07	5.54 ± 0.09	3.8 ~ 7.0
PDW		7.26 ± 3.91	7.38 ± 0.89	7.28 ± 0.04	7.30 ± 0.00	0.1 ~ 30.0
PCT	%	0.05 ± 0.02	0.21 ± 0.03	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.010 ~ 9.99

2.3 血清生化指标变化 结果表明,空白对照组和给药剂量组的除个别异常点外其余各项血清生化指标均在正常范围之内波动,组内数据对比得到给药过程使得血清中的白蛋白数量升高,但谷丙转氨酶和谷草转氨酶的含量没有显著差异 ($P > 0.05$),提示给药过程会对肝脏有轻微的损伤作用;组间数据对比得到血清生化指标没有显著差异 ($P > 0.05$) (表 7、表 8、表 9)。

表 7 各组奶牛在给药前的血液生化指标值 (Mean ± SD, n = 5)

Tab 7 Blood biochemical indexes of cows in each group before administration (Mean ± SD, n = 5)						
检测项目	单位	组别				正常范围
		空白对照组	1 倍剂量组	3 倍剂量组	5 倍剂量组	
ALB	g/L	36.76 ± 0.94	34.30 ± 3.00	33.04 ± 3.33	33.04 ± 3.33	25 ~ 38
ALP	U/L	73.00 ± 8.43	56.00 ± 26.95	53.40 ± 25.22	53.40 ± 25.22	18 ~ 153
ALT	U/L	15.34 ± 2.99	13.16 ± 3.14	16.40 ± 4.93	16.40 ± 4.93	6.9 ~ 35.3
AST	U/L	56.58 ± 1.65	56.94 ± 5.00	70.06 ± 15.74	70.06 ± 15.74	60 ~ 125
CHO	mmol/L	3.21 ± 0.22	3.34 ± 0.16	2.51 ± 0.86	2.51 ± 0.86	1.2 ~ 5.2
CREA - M	umol/L	61.96 ± 3.70	68.96 ± 8.90	66.22 ± 13.06	66.22 ± 13.06	56 ~ 162
GLU - HK	mmol/L	3.52 ± 0.43	3.10 ± 0.39	3.28 ± 0.41	3.28 ± 0.41	2.2 ~ 5.6
IP	mg/dL	1.91 ± 0.07	1.98 ± 0.17	2.02 ± 0.36	2.02 ± 0.36	1.39 ~ 2.77
TBIL - F	umol/L	1.24 ± 0.29	1.98 ± 0.59	1.86 ± 1.35	1.86 ± 1.53	0 ~ 27.4
TG	mmol/L	0.28 ± 0.13	0.24 ± 0.12	0.32 ± 0.06	0.32 ± 0.06	-
TP	g/L	68.80 ± 5.77	64.86 ± 6.29	59.68 ± 10.21	59.68 ± 10.21	67 ~ 75
UPEA	mmol/L	3.88 ± 0.60	3.30 ± 1.39	3.16 ± 0.74	3.16 ± 0.74	2 ~ 7.5
GLO	g/L	32.00 ± 5.05	30.60 ± 3.78	26.80 ± 7.40	36.20 ± 4.21	30 ~ 35

ALB:白蛋白;ALP:碱性磷酸酶;ALT:谷丙转氨酶;AST:谷草转氨酶;CHO:醛基;CREA - M:肌酐;GLU - HK:血糖;IP:三磷酸肌醇;TBIL - F:总胆红素;TG:甘油三酯;TP:总蛋白;UREA:尿素;GLO:球蛋白

表 8 各组奶牛在给药第一天的血液生化指标值 (Mean ± SD, n = 5)

Tab 8 Blood biochemical indexes of cows in each group after 1 day administration (Mean ± SD, n = 5)						
检测项目	单位	组别				正常范围
		空白对照组	1 倍剂量组	3 倍剂量组	5 倍剂量组	
ALB	g/L	29.32 ± 5.97	37.12 ± 2.75	35.84 ± 1.95	30.82 ± 5.77	25 ~ 38
ALP	U/L	47.60 ± 22.33	64.40 ± 6.66	71.40 ± 6.73	47.00 ± 26.76	18 ~ 153
ALT	U/L	14.74 ± 4.66	17.42 ± 0.50	15.42 ± 3.63	11.08 ± 4.39	6.9 ~ 35.3
AST	U/L	57.80 ± 9.43	60.86 ± 8.03	56.68 ± 8.00	48.06 ± 5.64	60 ~ 125
CHO	mmol/L	2.32 ± 1.05	2.53 ± 0.67	3.28 ± 0.29	3.00 ± 0.51	1.2 ~ 5.2
CREA - M	umol/L	62.92 ± 16.32	86.02 ± 29.34	61.96 ± 4.78	67.64 ± 8.37	56 ~ 162
GLU - HK	mmol/L	3.18 ± 0.51	3.64 ± 0.38	3.54 ± 0.39	3.04 ± 0.59	2.2 ~ 5.6
IP	mg/dL	2.05 ± 0.20	1.99 ± 0.15	1.91 ± 0.14	1.84 ± 0.15	1.39 ~ 2.77
TBIL - F	umol/L	0.94 ± 0.79	1.06 ± 0.77	0.90 ± 0.39	1.34 ± 0.62	0 ~ 27.4
TG	mmol/L	0.30 ± 0.07	0.37 ± 0.05	0.29 ± 0.18	0.25 ± 0.12	-
TP	g/L	53.36 ± 14.41	70.42 ± 6.68	71.04 ± 6.87	61.46 ± 10.15	67 ~ 75
UPEA	mmol/L	2.86 ± 0.77	3.91 ± 0.22	4.17 ± 0.54	3.41 ± 1.40	2 ~ 7.5
GLO	g/L	23.80 ± 9.18	33.20 ± 4.66	35.00 ± 5.10	30.80 ± 4.82	30 ~ 35

注见表 7

表 9 各组奶牛在连续给药第三天的血液生化指标值 (Mean ± SD, n = 5)

Tab 9 Blood biochemical indexes of cows in each group after 3 day administration (Mean ± SD, n = 5)						
检测项目	单位	组别				正常范围
		空白对照组	1 倍剂量组	3 倍剂量组	5 倍剂量组	
ALB	g/L	33.76 ± 4.44	40.22 ± 1.05	39.64 ± 1.98	36.82 ± 3.35	25 ~ 38
ALP	U/L	54.00 ± 22.79	71.00 ± 3.67	77.20 ± 8.58	57.20 ± 27.83	18 ~ 153
ALT	U/L	16.84 ± 4.78	20.28 ± 2.77	16.38 ± 3.7	13.32 ± 3.14	6.9 ~ 35.3
AST	U/L	72.66 ± 19.64	72.04 ± 16.06	61.74 ± 3.54	59.62 ± 8.22	60 ~ 125
CHO	mmol/L	2.72 ± 1.17	2.80 ± 0.70	3.57 ± 0.32	3.70 ± 0.36	1.2 ~ 5.2
CREA - M	umol/L	69.66 ± 11.21	93.30 ± 33.28	65.94 ± 3.31	74.34 ± 8.17	56 ~ 162
GLU - HK	mmol/L	3.52 ± 0.41	3.84 ± 0.21	3.68 ± 0.46	3.47 ± 0.44	2.2 ~ 5.6
IP	mg/dL	2.31 ± 0.28	2.08 ± 0.14	2.04 ± 0.08	2.05 ± 0.15	1.39 ~ 2.77
TBIL - F	umol/L	1.68 ± 1.40	1.48 ± 0.96	1.80 ± 0.19	2.20 ± 0.68	0 ~ 27.4
TG	mmol/L	0.31 ± 0.09	0.32 ± 0.09	0.28 ± 0.19	0.23 ± 0.13	-
TP	g/L	62.62 ± 9.15	77.06 ± 3.35	75.54 ± 5.35	71.38 ± 9.35	67 ~ 75
UPEA	mmol/L	2.97 ± 0.75	4.02 ± 0.22	4.27 ± 0.64	3.54 ± 1.38	2 ~ 7.5
GLO	g/L	28.80 ± 6.06	37.00 ± 2.55	35.80 ± 3.70	34.60 ± 6.62	30 ~ 35

注见表 7

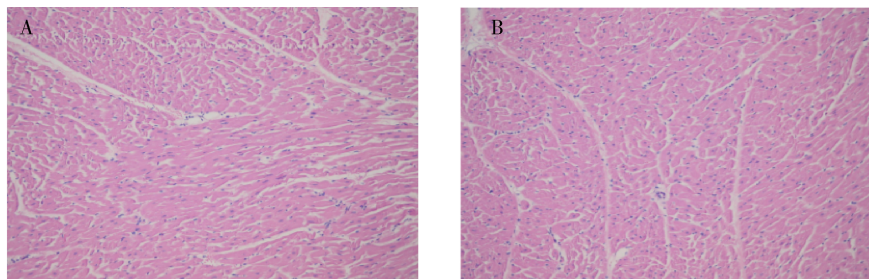
2.4 剖检与组织病理学检查

剖检结果发现:眼
观各重要脏器未见异常变化,颈部肌内注射给药部
位未见异常变化,空白对照组和 5 × 推荐剂量组奶
牛的各脏器系数差异均不明显 (P > 0.05)。组织

病理学镜下结果显示:空白对照组 2 头牛肺组织可
见部分肺泡扩张,轻度间质充血淤血; 2 头牛注射
部位肌肉可见肌纤维断裂、坏死,少量炎性细胞浸
润;其余脏器未见明显病理改变。试验组 2 头牛肺

组织可见少量肺泡扩张、偶见肺泡中有红细胞浸润、轻度间质淤血;2 头牛注射部位的肌肉可见肌

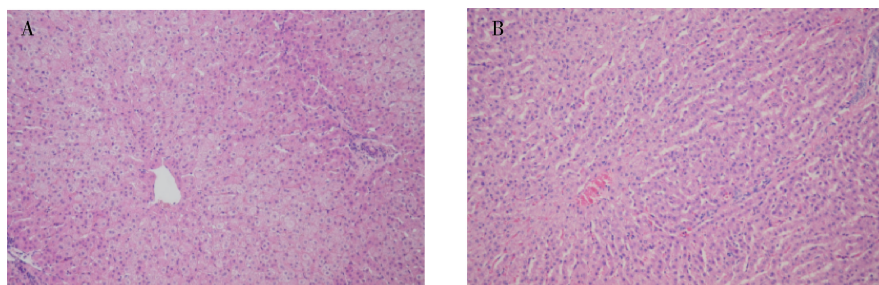
纤维断裂、排列紊乱、呈波浪状,出血,较多炎性细胞浸润;其余脏器未见明显病理改变(图 1~图 6)。



a:对照组(H. E., 20 ×);b:5 倍剂量组(H. E., 20 ×)

图 1 心肌组织切片显微结构

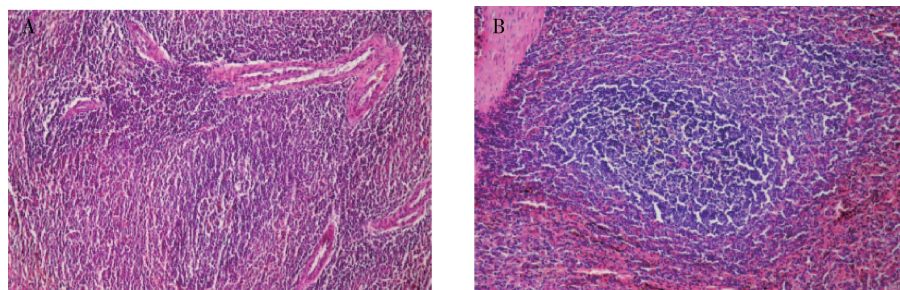
Fig 1 Microstructure of heart tissue section



a:对照组(H. E., 20 ×);b:5 倍剂量组(H. E., 20 ×)

图 2 肝组织切片显微结构

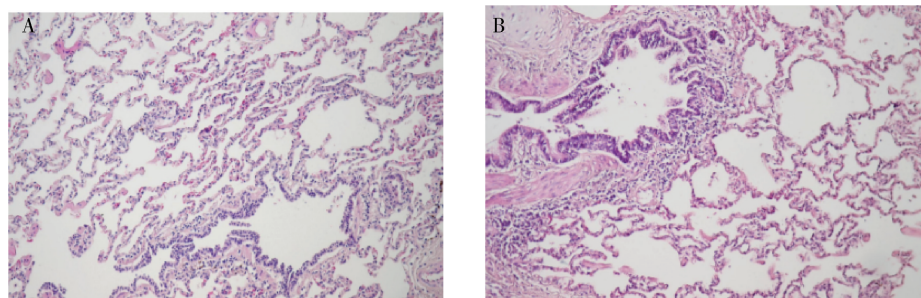
Fig 2 Microstructure of liver tissue section



a:对照组(H. E., 20 ×);b:5 倍剂量组(H. E., 20 ×)

图 3 脾脏组织切片显微结构

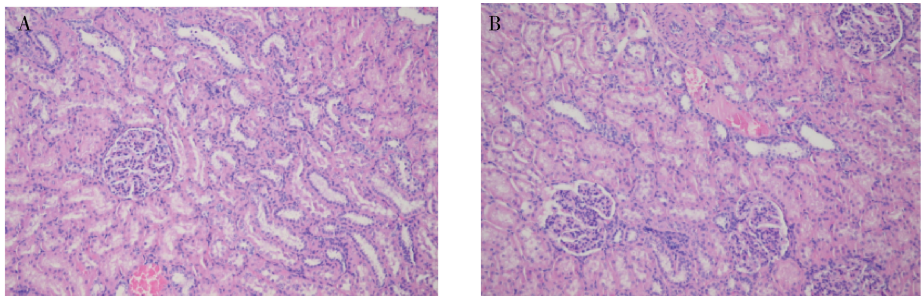
Fig 3 Microstructure of splenic tissue section



a:对照组(H. E., 20 ×);b:5 倍剂量组(H. E., 20 ×)

图 4 肺脏组织切片显微结构

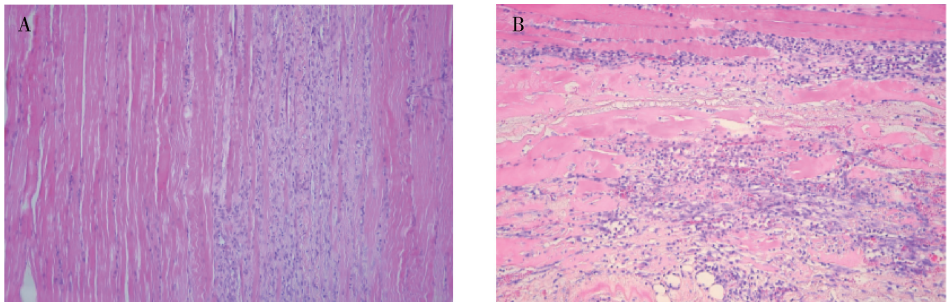
Fig 4 Microstructure of lungs tissue section



a:对照组 (H. E. ,20 ×);b:5 倍剂量组 (H. E. ,20 ×)

图 5 肾脏组织切片显微结构

Fig 5 Microstructure of kidney tissue section



a:对照组 (H. E. ,20 ×);b:5 倍剂量组 (H. E. ,20 ×)

图 6 注射部位肌肉切片显微结构

Fig 6 Microstructure of Injection site muscle tissue sectio

3 讨论与结论

本次试验旨在考察受试药物使用于靶动物的安全性及安全剂量范围,为进一步临床试验给药方案的制定提供依据。为观察不同剂量卡洛芬注射液作用于靶动物后从有效作用到毒性作用的动态变化过程,本次试验采用与临床应用相同的给药途径,给药为全程给药。结果发现:卡洛芬注射液三个剂量组奶牛状态良好,生长正常,未出现中毒症状及死亡,血液生理生化指标、剖检以及组织显微结构等与对照组相比均无明显差异。

但血液生理指标中,组内对比 3 倍剂量组和 5 倍剂量组中血小板平均宽度与对照组相比差异显著,这种变化可能为连续给药造成的影响。这与文献^[5]中关于选择性使用 COX - 2 抑制剂导致血栓栓塞副作用的报道相似。长期或者大剂量给予 COX - 2 选择非甾体类抗炎药可以导致前列腺素的失衡,与此同时相对增加血栓和血小板,促进血小板聚集和血栓血管收缩。组间数据对比分析可知给药过程会使中性粒细胞数明显降低、血小板数量

增加,提示连续给药过程中随着剂量的增加,可能会导致一定程度的胃肠道出血现象。血液生化指标中,其中 5 倍剂量组组内白蛋白数量明显增加,表明长期大剂量给药过程中会对肝脏产生一定损伤。另外,两组奶牛肺组织出现相似的病理学变化,很可能与试验牛在剖检前的应激等其他因素相关,提示该病理学变化与受试物无关;两组奶牛注射部位肌肉组织出现相似的病理学变化,该病理变化为药物(或生理盐水)注射引起的局部炎症反应,为正常现象。

国外有报道研究意大利弗里西亚奶牛单次注射卡洛芬注射液对产后血液学指标、生产性能和生育能力的影响^[6-8]。治疗组给药卡洛芬(1.4 mg/kg 体重),对照组给与生理盐水(2.0 mL /45.5 kg 体重)。研究结果证明,在分娩后立即向不发热的奶牛注射卡洛芬注射液可以积极影响奶牛在泌乳初期的代谢适应,这方面可以积极影响繁殖性能和淘汰率,这与本试验中推荐剂量的安全性相一致。

综上所述,卡洛芬注射液按照 1 倍推荐剂量

(1.4 mg/kg B. W.)、3 倍推荐剂量(4.2 mg/kg B. W.)、5 倍推荐剂量(7.0 mg/kg B. W.)单剂量皮下注射,连续给药 3 d,均对靶动物牛无明显毒副作用。因此,卡洛芬注射液在临床上以 1.4 mg/kg B. W. 给药对靶动物奶牛是安全的。

参考文献:

[1] EMEA. Committee for Veterinary Medicinal Products(EMEA/MRL/042/95 – FINAL)[DB/OL]. [1999 – 01] https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/carprofen-summary-report-1-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf.

[2] EMEA. Committee for Veterinary Medicinal Products(EMEA/MRL/528/98 – FINAL)[DB/OL]. [1999 – 01] https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/carprofen-summary-report-2-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf.

[3] EMEA. Committee for Medicinal Products for Veterinary Use (EMEA/MRL/914/04 – FINAL)[DB/OL]. [2004 – 11] https://www.ema.europa.eu/en/documents/mrl-report/carprofen-summary-report-3-committee-veterinary-medicinal-products_en.pdf.

[4] 农业农村部兽药评审中心. 兽药研究技术指导原则汇编 [M]. 北京:化学工业出版社,2012,166 – 167.

The Center for Veterinary Drug Evaluation of Ministry of Agriculture and Rural Affairs. Compilation of technical guidelines for veterinary drug research [M]. Beijing: Chemical Industry Press,2012,166 – 167.

[5] Shauna L Blois, Dana G Allen, R Darren Wood, Peter D Conlon. Effects of aspirin, carprofen, deracoxib, and meloxicam on platelet function and systemic prostaglandin concentrations in healthy dogs[J]. Am J Vet Res. 2010,71(3):349 – 358.

[6] Freedom of Information Summary Original New Animal Drug Application [DB/OL]. <https://animaldrugsatfda.fda.gov/adafda/app/search/public/document/downloadFoi/584>.

[7] Freedom of Information Summary Original New Animal Drug Application [DB/OL]. <https://animaldrugsatfda.fda.gov/adafda/app/search/public/document/downloadFoi/640>.

[8] Freedom of Information Summary Original New Animal Drug Application [DB/OL]. <https://animaldrugsatfda.fda.gov/adafda/app/search/public/document/downloadFoi/710>.

(编辑:侯向辉)