

注射用头孢曲松钠溶血性、局部刺激性和过敏反应一致性评价

李 航^{1,2}, 曾业文^{1,2}, 刘晓霖^{1,2}, 黄 仁^{1,2}, 刘 婵^{1,2}, 梁金强^{1,2}, 关业枝^{1,2*}

1. 广东省实验动物监测所, 广东 广州 510663

2. 广东省实验动物重点实验室, 广东 广州 510663

摘 要: 目的 采用溶血性、血管刺激性试验、肌肉刺激性试验和全身主动过敏试验(ASA)检测受试物注射用头孢曲松钠与市售对照品(罗氏芬)局部毒性和过敏性, 进行一致性评价。方法 分别采用肉眼观察法和分光光度法进行体外溶血性试验; 以受试物或市售对照品临床iv最高浓度($93 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)连续4 d耳缘静脉推注给药进行新西兰兔血管刺激性试验; 以临床im最高浓度($238 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, 给药体积1 mL)连续4 d右后肢股四头肌im给药进行新西兰兔肌肉刺激性试验; 采用传统豚鼠ASA进行过敏性试验, 致敏剂量分别0.5、 $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, 激发剂量分别为1.0、 $3.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 。结果 肉眼观察法和分光光度法均显示受试物及市售对照品无体外溶血和红细胞凝聚作用; 临床等效剂量的受试物及市售对照品均无血管刺激性; 最大给药浓度的受试物及市售对照品在末次给药后72 h均有重度肌肉刺激性, 恢复期结束时受试物组与市售对照品组动物注射部位肌肉均见纤维化等正常修复现象; 受试物及市售对照品均可见弱阳性全身致敏作用, 结果具有一致性。结论 受试物注射用头孢曲松钠与市售对照品局部毒性反应和过敏反应情况基本一致, 可用于临床。

关键词: 注射用头孢曲松钠; 溶血性; 刺激性; 全身主动过敏试验; 一致性

中图分类号: R994.21

文献标志码: A

文章编号: 1674-6376(2022)06-1113-06

DOI: 10.7501/j.issn.1674-6376.2022.06.014

Consistency evaluation of hemolytic, local irritant and allergic reactions of Ceftriaxone Sodium for Injection

LI Hang^{1,2}, ZENG Yewen^{1,2}, LIU Xiaolin^{1,2}, HUANG Sa^{1,2}, LIU Chan^{1,2}, LIANG Jinqiang^{1,2}, GUAN Yezhi^{1,2}

1. Guangdong Laboratory Animals Monitoring Institute, Guangzhou 510663, China

2. Guangdong Key Laboratory of Laboratory Animals, Guangzhou 510663, China

Abstract: **Objective** Hemolysis test, vascular irritation test, muscle irritation test and active systemic anaphylaxis test (ASA) were used to observe the local toxicity and anaphylaxis of Ceftriaxone Sodium for Injection and Rochefen, the commercial reference substance, and to evaluate the consistency. **Methods** The hemolysis tests were performed by naked eye observation and spectrophotometer method. The vascular irritation test of New Zealand rabbits was performed by auricular vein administration with maximum concentration ($93 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) for clinical intravenous administration of test substance or commercially available control substance for four days. The muscle irritation test of New Zealand rabbits was performed by im injection of quadriceps femoris of right hindlimb for four days with highest clinical concentration of intramuscular injection ($238 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$, administration volume 1 mL). The active systemic anaphylaxis test was performed by traditional ASA test of guinea pigs. The sensitization doses were 0.5 and $1.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, and the excitation doses were 1.0 and $3.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, respectively. **Results** Both naked eye observation and spectrophotometer method showed that the test substance and Rochefen had no hemolysis and erythrocyte aggregation *in vitro*. The clinical equivalent dose of the test substance group and the Rochefen group had no vascular irritation. The maximum administration concentration of the test substance and Rochefen had severe muscle irritation 72 h after the last administration and at the end of the recovery period, normal repair phenomena such as fibrosis were observed in the muscles at the injection site of the animals in the test substance group and the commercial reference substance group. The ASA test showed the weak positive systemic sensitization consistently between the test substance groups and the Rochefen groups. **Conclusion** The local toxicity and anaphylaxis of ceftriaxone sodium for injection is basically the same as Rochefen which can be used in clinic.

Key words: Ceftriaxone Sodium for Injection; hemolytic; irritation; active systemic anaphylaxis test, consistency

收稿日期: 2021-11-17

基金项目: 国家自然科学基金(81941004);广东省重点领域研发计划“大动物GLP实验平台”(2008A08003)

第一作者: 李 航(1988—),男,助理研究员/主管药师,主要从事药物非临床评价研究及药效学研究。E-mail: lihang@gdlami.com

*通信作者: 关业枝,女,研究员,硕士生导师,主要从事药物非临床评价研究。E-mail: gyz@gdlami.com

注射用头孢曲松钠(ceftriaxone sodium)为第3代头孢菌素,其抗菌活性强、抗菌谱更广,对 β -内酰胺酶稳定,对革兰阴性菌作用比第2代头孢菌素更优越、抗菌谱比第2代头孢菌素更广泛,是头孢菌素类药物中较优秀的一种,已成为临床应用较广泛的抗感染药物之一。但临床上时有相关不良反应报告^[1-3],为保证临床用药安全性,现对受试物注射用头孢曲松钠与市售对照品罗氏芬进行一致性评价,采用溶血性、血管刺激性试验、肌肉刺激性试验和全身主动过敏试验(ASA)观察相关药物的局部毒性和过敏性。

1 材料

1.1 药物及主要试剂

受试物注射用头孢曲松钠,由山西普德药业有限公司生产,批号22190501,规格1.0 g(按 $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ 计);市售对照品注射用头孢曲松钠(罗氏芬),由上海罗氏制药有限公司生产,批号B0467B03,规格1.0 g(按 $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ 计);牛血清白蛋白,由北京索莱宝科技有限公司生产,批号605U058,规格:每瓶25 g。

1.2 主要仪器

THZ-98A型恒温振荡器(上海一恒科学仪器有限公司);T6新世纪紫外可见分光光度计(北京普析通用仪器有限责任公司);R402型微量注射泵(深圳市瑞沃德生命科技有限公司)。

1.3 实验动物

29只普通级新西兰兔,14只雌性15只雄性,由广州市花都区花东信华实验动物养殖场提供,实验动物生产许可证号SCXK(粤)2019-0023,饲养于广东省实验动物监测所普通级动物房,温度16~26℃,相对湿度40%~70%,照明采用12 h/12 h昼夜明暗交替,单笼饲养,自由摄食饮水。SPF级Hartley豚鼠,58只,雌雄各半,由广东省医学实验动物中心提供,生产许可证号SCXK(粤)2018-0002,饲养于广东省实验动物监测所SPF级动物房,温度为20~26℃,相对湿度40%~70%,照明采用12 h/12 h昼夜明暗交替,群养,自由摄食饮水。本实验的动物使用方法均经广东省实验动物监测所IACUC批准,IACUC编号分别为IACUC2019061、IACUC2019062、IACUC2019064、IACUC2019069。

2 方法

2.1 体外溶血性试验

取洁净试管84支,进行编号,1~5号管为受试

物管,6~10号管为市售对照品管,11号管为阴性对照管,12号管为阳性对照管(每号管配7支试管,7支试管完全平行操作,平行管加注编号后缀1~7区分);按表1所示依次加入2%红细胞悬液、0.9%氯化钠注射液或灭菌注射用水、受试物或市售对照品注射用头孢曲松钠溶液($93\text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$),混匀后,立即置(37.0 ± 0.5)℃的恒温箱中进行温育。温育1 h内每隔15 min观察1次,1 h后,每隔1 h观察1次,连续观察3 h。每次观察的同时取出1个平行管进行分光光度法检测。

表1 注射用头孢曲松钠体外溶血试验加样

Table 1 Sample addition for *in vitro* hemolysis test of Ceftriaxone Sodium for Injection

试管 编号	2%红细胞 悬液/mL	0.9%氯化钠 注射液/mL	灭菌注射 用水/mL	受试物/ mL	市售对照 品/mL
1	2.5	2.0		0.5	
2	2.5	2.1		0.4	
3	2.5	2.2		0.3	
4	2.5	2.3		0.2	
5	2.5	2.4		0.1	
6	2.5	2.0			0.5
7	2.5	2.1			0.4
8	2.5	2.2			0.3
9	2.5	2.3			0.2
10	2.5	2.4			0.1
11	2.5	2.5			
12	2.5		2.5		

2.1.1 肉眼观察法 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,可按下法进一步判定是真凝聚还是假凝聚:若凝聚物在试管振荡后又能均匀分散,或将凝聚物放在载玻片上,在盖玻片边缘滴加2滴0.9%氯化钠溶液,置显微镜下观察,凝聚红细胞能被冲散者为假凝聚;若凝聚物不被摇散或在玻片上不被冲散者为真凝聚。

2.1.2 分光光度法 将温育了不同时间点的各管溶液1 200 $\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心15 min,取上清液,用分光光度计在波长545 nm处,以灭菌注射用水为空白检测吸光度(A)值,计算溶血率,评价标准:溶血率>5%表明有溶血发生。

$$\text{溶血率} = (A_{\text{试验}} - A_{\text{阴性对照}}) / (A_{\text{阳性对照}} - A_{\text{阴性对照}})$$

2.2 血管刺激性试验

将新西兰兔随机分为3组:阴性对照组(0.9%氯化钠注射液)、受试物组(注射用头孢曲松钠)、市售对照品组(罗氏芬),每组4只,雌雄各半。受试物组和市售对照品组以受试物或市售对照品临床iv最高给药浓度($93 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)进行试验,经右耳耳缘静脉推注给药,给药剂量为临床等效剂量 $174.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (按体表面积计),每天给药1次,连续给药4 d(动物不耐受);阴性对照组给予 $1.87 \text{ mL} \cdot \text{kg}^{-1}$ 的0.9%氯化钠注射液。

首次给药前(D1)、末次给药后72 h(D7)和恢复期结束时(D21)各称体质量1次。每天肉眼观察新西兰兔注射部位反应情况,如有无红肿、破溃、结痂及硬结等,同时观察动物的外观体征及行为活动、精神状态、被毛、腺体分泌、呼吸、粪便、摄食量等情况。

末次给药后72 h(D7)及恢复期结束(D21),每组取2只(雌雄各1只)新西兰兔,麻醉放血安乐死,沿耳根部切除新西兰兔右侧(给药侧)兔耳,分别对注射部位近心端、注射部位及注射部位远心端制备切片,HE染色后进行组织病理学检查,并提供病理照片。

2.3 肌肉刺激性试验

将新西兰兔随机分为3组:阴性对照组(0.9%氯化钠注射液)、受试物组(注射用头孢曲松钠)、市售对照品组(罗氏芬),每组4只,雌雄各半。受试物组和市售对照品组以临床im最高给药浓度($238 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)对新西兰兔右后肢股四头肌im受试物或市售对照品注射用头孢曲松钠溶液1.0 mL,每天1次,连续4 d(动物不耐受),阴性对照组动物给予等体积的0.9%氯化钠注射液。

首次给药前(D1)、末次给药后72 h(D7)和恢复期结束时(D21)各称体质量1次。每天肉眼观察新西兰兔注射部位反应情况,如充血、红肿等。同时观察动物的外观体征及行为活动、精神状态、被毛、腺体分泌、呼吸、粪便、摄食量等情况。

末次给药后72 h(D7)及恢复期结束(D21),每组取2只(雌雄各1只)新西兰兔,麻醉放血安乐死,对动物注射局部进行剖检观察刺激反应;对注射局部进行取材,进行HE染色及组织病理学检查,并提供病理照片。

2.4 ASA

豚鼠的注射用头孢曲松钠临床等效剂量为 $302.69 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (按体表面积计),因豚鼠使用等效剂

量进行青霉素类及头孢菌素类药ASA时,动物不耐受,会出现死亡等现象^[4-5]。故在正式试验前开展注射用头孢曲松钠豚鼠耐受性试验,给药剂量、频次及观察期限等条件同ASA。

15.0 、 5.0 、 $1.7 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 3个剂量(分别相当于等效剂量的1/20、1/60、1/178)的受试物组和0.9%氯化钠注射液的阴性对照组,隔日1次,共3次给药,给药期间3个剂量组均可见部分动物摄食量下降、体质量减轻,后期体质量增长缓慢,体质量与阴性对照组相差较大。故正式试验设 1.5 、 $0.5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ 分别为受试物高、低剂量组致敏剂量。

检疫后选取体质量居中的SPF级Hartley豚鼠52只,按体质量、性别随机分为6组,分别为阴性对照组(6只,0.9%氯化钠注射液)、阳性对照组(6只, $10 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 牛血清白蛋白溶液)、受试物低和高剂量组(各10只, 0.4 、 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 注射用头孢曲松钠溶液)、市售对照品低和高剂量组(各10只, 0.4 、 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 市售对照品注射用头孢曲松钠溶液),雌雄各半,ip致敏,给药体积每只0.5 mL,隔日1次,共3次。末次致敏后第14、21天分别快速iv致敏剂量的2倍进行激发,给药体积每只1 mL。

试验期间,每日观察1次豚鼠的症状,首次致敏、末次致敏和激发当日称体质量。激发后3 h内,按表2详细观察每只豚鼠的反应症状,并记录症状开始及消失的时间,根据表3判断过敏反应分级及发生率。

表2 过敏反应症状

Table 2 Symptoms of allergic reactions

编号	症状	编号	症状	编号	症状
0	正常	7	呼吸急促	14	步态不稳
1	不安宁	8	排尿	15	跳跃
2	竖毛	9	排粪	16	喘息
3	发抖	10	流泪	17	痉挛
4	搔鼻	11	呼吸困难	18	旋转
5	喷嚏	12	哮喘音	19	潮式呼吸
6	咳嗽	13	紫癜	20	死亡

表3 全身致敏性评价标准

Table 3 Evaluation standard of systemic hypersensitivity

编号	过敏反应分级
0	阴性(—)
1~4	弱阳性(+)
5~10	阳性(++)
11~19	强阳性(+++)
20	极强阳性(++++)

3 结果

3.1 溶血性试验

3.1.1 肉眼观察法 温育后 15 min 至 3 h, 受试物管(1~5号)、市售对照品管(6~10号)和阴性对照管(11号)红细胞持续下沉, 上层澄清体积逐渐增

大, 为无溶血现象。阳性对照管(12号)溶液依然呈澄明红色, 管底有少量红细胞残留, 为明显的溶血现象。

3.1.2 分光光度法 受试物管及市售对照品管(1~10号)在各观察时间点的溶血率均<5%, 见表4。

表4 注射用头孢曲松钠体外溶血试验分光光度法结果

Table 4 Spectrophotometry results of *in vitro* hemolysis test of Ceftriaxone Sodium for Injection

试管 编号	15 min		30 min		45 min		1 h		2 h		3 h	
	A值	溶血率/%	A值	溶血率/%	A值	溶血率/%	A值	溶血率/%	A值	溶血率/%	A值	溶血率/%
1	0.017	-0.58	0.024	0.10	0.032	-0.43	0.025	-0.23	0.036	1.62	0.023	0.37
2	0.024	0	0.023	0	0.034	-0.14	0.025	-0.23	0.021	0.10	0.020	0
3	0.020	-0.33	0.032	0.92	0.036	0.14	0.024	-0.35	0.018	-0.20	0.021	0.12
4	0.020	-0.33	0.023	0	0.033	-0.29	0.025	-0.23	0.018	-0.20	0.023	0.37
5	0.019	-0.41	0.023	0	0.037	0.29	0.030	0.35	0.02	0	0.027	0.87
6	0.023	-0.08	0.025	0.21	0.033	-0.29	0.027	0	0.024	0.40	0.025	0.62
7	0.022	-0.17	0.024	0.10	0.032	-0.43	0.026	-0.12	0.024	0.40	0.021	0.12
8	0.022	-0.17	0.024	0.10	0.031	-0.58	0.026	-0.12	0.021	0.10	0.022	0.25
9	0.022	-0.17	0.025	0.21	0.034	-0.14	0.027	0	0.022	0.20	0.02	0
10	0.032	0.66	0.032	0.92	0.033	-0.29	0.026	-0.12	0.018	-0.20	0.021	0.12
11	0.024		0.023		0.035		0.027		0.020		0.020	
12	1.231		0.996		0.725		0.890		1.008		0.828	

注射用头孢曲松钠(受试物及市售对照品)以临床用药浓度($93 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)进行试验, 3 h内均未见溶血和凝聚反应发生, 分光光度法在各观察时间点的溶血率均<5%, 该结果提示注射用头孢曲松钠(受试物及市售对照品)无体外溶血和红细胞凝聚作用, 受试物与市售对照品无明显差异, 可以注射使用。

3.2 血管刺激性

3.2.1 一般观察 试验期间, 阴性对照组动物未见明显异常。给药期受试物组1只动物(1/4)在给药3 d后死亡, 肛周可见稀便污染, 体质量较首次给药前减轻; 部分动物存在活动减少、摄食量降低、稀便等异常症状, 恢复期内恢复正常。给药期市售对照品组部分动物存在活动减少、摄食量降低、稀便等症状, 恢复期内恢复正常。

3.2.2 动物体质量 与阴性对照组相比, 末次给药后72 h受试物组、市售对照品组动物体质量无显著性差异, 受试物组、市售对照品组动物恢复期结束前体质量均较末次给药后72 h有所增加。

3.2.3 动物给药局部观察 给药期至恢复期结束, 各组动物给药局部均未见明显异常。

3.2.4 组织病理学检查 在末次给药72 h及恢复

期结束, 各组动物镜下检查均未见明显异常, 见图1。

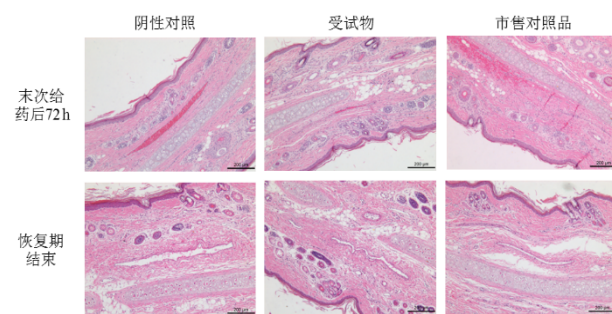


图1 血管刺激性试验新西兰兔耳近心端病理照片
Fig. 1 Vascular stimulation test pathological photographs of New Zealand rabbit ear proximal part

结果提示, 与阴性对照组比较, 受试物注射用头孢曲松钠无血管刺激性, 与市售对照品血管刺激性作用无明显差异。

3.3 肌肉刺激性

3.3.1 一般观察 试验期间, 阴性对照组动物未见明显异常; 给药期受试物组1只动物(1/4)在给药3 d后死亡, 肛周可见粪便污染, 体质量较首次给药前减轻, 部分动物存在活动减少、摄食量降低、稀便等异常症状, 恢复期后期动物逐步恢复正常; 市售对

照品组部分动物存在活动减少、摄食量降低、稀便等异常症状,恢复期后期动物逐步恢复正常。

3.3.2 动物体质量 与阴性对照组相比,末次给药后72 h受试物组、市售对照组动物体质量均无明显差异,且恢复期结束前体质量均较末次给药后72 h增加。

3.3.3 动物给药局部观察 试验过程中,各试验组动物给药局部无明显异常。

3.3.4 组织病理学检查 在末次给药后72 h受试物与市售对照品均有重度的肌肉刺激性,可见注射局部肌肉局灶性坏死,其中受试物组动物的坏死面积稍大于市售对照品组;恢复期结束时受试物组与市售对照品组动物注射部位肌肉均见纤维化等正常修复现象。结果见图2。

结果提示,以临床im最高给药浓度($238 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)对新西兰兔右后肢股四头肌im受试物或市售对照品1.0 mL,每天1次,连续4 d,在末次给药后72 h受

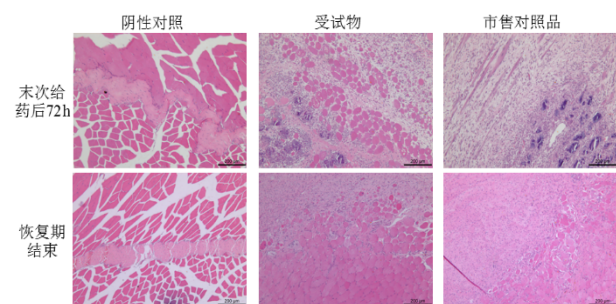


图2 肌肉刺激性试验新西兰兔注射部位病理照片
Fig. 2 Muscle irritation test pathological photos of New Zealand rabbits of injection sites

表5 注射用头孢曲松钠对豚鼠ASA试验激发反应结果

Table 5 Results of twice-excitation reaction of ceftriaxone sodium for injection on guinea pig active systemic hypersensitivity test

组别	致敏剂量/ $(\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1})$	n/只	过敏反应/只					过敏反应发生率/%
			—	+	++	+++	++++	
阴性对照	—	6	6	0	0	0	0	0
受试物	0.5	9	9	0	0	0	0	0
	1.5	10	8	2	0	0	0	20
市售对照品	0.5	10	8	2	0	0	0	20
	1.5	10	9	1	0	0	0	10
阳性对照	12.5	6	0	0	0	0	6	100

4 讨论

溶血性试验包括体外试验和体内试验,体外溶血试验既是重要的药物安全性评价研究内容之一,又是药物质量检测的指标之一。通常情况下,溶血试验以肉眼观察法为主,只能从表观来判断溶血的情况,部分有色注射液会给肉眼观察带来影响,且肉眼观察法存在较大的主观偏向,并不能准确反映药物是否会在体外引起溶血或者溶血的程度,紫外

试物与市售对照品均有重度肌肉刺激性,可见注射部位肌肉局灶性坏死,其中受试物组动物的坏死面积稍大于市售对照品组;恢复期结束时受试物组与市售对照品组动物注射部位肌肉均见纤维化等正常修复现象。

3.4 ASA

3.4.1 一般观察 试验期间,在末次致敏给药后第10天,受试物低剂量组1只动物(1/10)死亡,大体剖检各组织脏器均未见明显异常。其余各组动物在致敏期间未见明显异常。

3.4.2 体质量 首次致敏、末次致敏以及激发当日,各组豚鼠体质量均无显著性差异。

3.4.3 激发期间 阴性对照组所有动物未见过敏反应症状,过敏反应发生率为0(0/6);阳性对照组所有动物出现死亡等极强阳性过敏反应,过敏反应发生率100%(6/6);试验系统可靠。受试物低剂量组所有动物未见过敏反应症状,过敏反应发生率为0(0/9);受试物高剂量组少数动物出现搔鼻等弱阳性过敏反应症状,过敏反应发生率为20%(2/10);市售对照品低剂量组少数动物出现搔鼻等弱阳性过敏反应症状,过敏反应发生率为20%(2/10);市售对照品高剂量组个别动物出现搔鼻等弱阳性过敏反应症状,过敏反应发生率为10%(1/10)。结果见表5。

结果提示,使用受试物和市售对照品注射用头孢曲松钠对Hartley豚鼠进行3次ip致敏及快速iv激发后均可见弱阳性全身性致敏作用,结果具有一致性。

分光光度计法通过测量血红蛋白浓度可定量判断是否溶血及溶血程度,能够数据化、客观化,更准确、更可信。因此,在体外溶血中,可采用肉眼观察法(定性)与紫外分光光度计法测量血红蛋白浓度(定量)结合,互为补充。

在血管刺激性和肌肉刺激性试验中,受试物组及市售对照品组部分动物均有活动减少、摄食量降低、软便等症状,受试物组均有动物(1/4)死亡,通过

大体剖检及病理检查结果,结合该类药物相关文献^[6],推测为头孢菌素类药物影响动物胃肠道微生物群失调引发急性肠炎导致死亡。新西兰兔对头孢类药物耐受较差,在开展头孢类药物血管刺激性、肌肉刺激性等局部毒性试验前,应开展确定动物最大耐受量的预试验。试验过程中,应在不影响给药局部评价的基础上,及时对食欲不振、稀便等异常动物给予乳酶生片和蒙脱石散治疗,避免动物病情加重导致死亡。

在ASA中,因头孢类药物影响豚鼠胃肠道微生物群,导致动物对头孢类药物敏感、耐受量低,最大耐受量常为临床拟用最小剂量的几分之一甚至几十分之一,稍高剂量则会导致动物产生毒性反应甚至死亡^[7],且毒性反应无明显的量效关系,需开展确定动物最大耐受量的预试验。试验中可适当增加动物数量,避免因动物死亡导致样本量不足。

使用豚鼠进行头孢类药物ASA,为保证动物存活而不得降低给药剂量,较低的剂量可能会导致假阴性结果,而大鼠对头孢类药物耐受程度高,因此罗秩凡等^[8]建立了大鼠ASA模型及联合佐剂的两次多点致敏法改良大鼠ASA模型,结果显示大鼠ASA模型阳性对照组动物反应多为弱阳性,且过敏率仅为75%;改良的大鼠ASA模型动物过敏率虽达到了100%,但极强阳性发生率(75%)不及传统的豚鼠ASA模型。陈华英等^[9]使用不同品系大鼠进行ASA,证明大鼠可以用于ASA评价,但各品系大鼠的阳性对照组过敏强度均不及豚鼠。

目前“药物刺激性、过敏性和溶血性研究技术指导原则”^[10]ASA建议选用豚鼠,且目前披露的大鼠ASA中的过敏率、过敏强度仍不及豚鼠,针对头孢类药物ASA建议同时进行传统豚鼠ASA及改良的大鼠ASA,互为补充,以增加试验结果可靠性。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] 吕长淮. 注射用头孢曲松钠致过敏性休克3例分析[J]. 海峡药学, 2018, 30(10): 265-266.
Lü C H. Analysis of 3 cases of allergic shock induced by Ceftriaxone Sodium for Injection [J]. Strait Pharm J, 2018, 30 (10): 265-266.
- [2] 韩根利, 冯艳霜. 注射用头孢曲松钠致过敏反应2例的思考[J]. 天津药学, 2018, 30(4): 27.
Han G L, Feng Y S. Thoughts on 2 cases of allergic reaction induced by Ceftriaxone Sodium for Injection [J]. Tianjin Pharm, 2018, 30(4): 27.
- [3] 王平. 619例严重药品不良反应报告回顾性分析[J]. 安徽医药, 2020, 24(8): 1693-1696.
Wang P. Retrospective analysis of 619 cases of serious adverse drug reactions [J]. Anhui Med Pharm J, 2020, 24 (8): 1693-1696.
- [4] 陈万中, 朱小娴. 注射用头孢美唑钠安全性动物实验研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2011, 10(20): 1605-1607.
Chen W Z, Zhu X X. Evaluation on safety of cefmetazole sodium injection [J]. J Clin Exp Med, 2011, 10(20): 1605-1607.
- [5] 王中连. 头孢菌素类抗生素过敏反应实验方法探讨[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2013, 27(3): 537.
Wang Z L. Test method for allergic reaction of cephalosporins [J]. Chin J Pharmacol Toxicol, 2013, 27 (3): 537.
- [6] Kylie J, McEwen S A, Boerlin P, et al. Prevalence of antimicrobial resistance in fecal *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* in Canadian commercial meat, companion, laboratory, and shelter rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) and its association with routine antimicrobial use in commercial meat rabbits [J]. Prev Vet Med, 2017, 147(1): 53-57.
- [7] 韩重, 杨威. 头孢菌素类抗生素过敏反应临床前安全性评价的探讨[J]. 国外医药: 抗生素分册, 2009, 30(3): 135-138.
Han Z, Yang W. Discussion on the pre-clinical safety evaluation of the allergic reactions in the cephalosporin antibiotics [J]. World Notes Antibiot, 2009, 30(3): 135-138.
- [8] 罗铁凡, 任利翔, 姜明燕. 青霉素类和头孢菌素类药物的全身主动过敏试验方法探讨[J]. 山东医药, 2014, 54(20): 28-30.
Luo Y F, Ren L X, Jiang M Y. Study on systemic active allergy test method of penicillins and cephalosporins [J]. Shandong Med J, 2014, 54(20): 28-30.
- [9] 陈华英, 李秀芳, 金若敏, 等. 大鼠主动全身过敏试验方法的探讨[J]. 中成药, 2012, 34(7): 1209-1215.
Chen H Y, Li X F, Jin R M, et al. Active systemic anaphylaxis test in rats [J]. Chin Tradit Pat Med, 2012, 34 (7): 1209-1215.
- [10] 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[S]. 2014.
National Food and Medical Products Administration. Technical Guidelines for the Study of Drug Irritation, Allergy and Hemolysis [S]. 2014.

[责任编辑 兰新新]