蜜蜂用抗微生物药药效评价试验技术指导原则

一、概述

（一）定义与目的

蜜蜂用抗微生物药是指用于治疗由细菌或真菌引起蜜蜂疾病的药物。蜜蜂用抗微生物药药效评价试验是蜜蜂用抗微生物药的剂量确定试验，也称Ⅱ期临床试验，目的是了解不同剂量的受试药物对蜂群疾病的抗微生物效果，确定受试药物的治疗作用和剂量。

（二）适用范围

本指导原则适用于治疗蜜蜂细菌或真菌疾病的抗微生物药。按每种适应症进行试验，一般采用人工诱发感染（接种），条件不具备时也可选择自然感染病例。

二、试验设计

（一）试验蜂群

1.蜂种：应与药物申报应用的蜂种相一致。

2.来源：应为来源清楚、饲养规范的蜂群。

3.群势要求：各蜂群的群势应基本一致，平均为6足框以上。在试验前定群，分别记录卵、幼虫、蜂盖子、成年蜂的数量。

4.试验组蜂群数：每个试验组蜂群数不低于（含）5群。每个适应症的蜂群数不得低于30群。

5.自然感染病例的选择：选用的自然感染病例应症状明显、典型，并从病例中分离出致病菌。

6.受试蜂群的人工诱发感染：接种虫龄应与疾病发生的虫龄相适应，幼虫病一般在幼虫2日龄时接种，成年蜂在幼蜂刚出房时接种。诱发蜂群发生疾病的典型症状，并能从具典型症状的病虫中分离出所接种的病原菌。试验用菌必须是新鲜、并与野生菌株致病力、毒力相当的培养物（实验室长期人工培养的菌株要定时回接恢复致病力与毒力）。

蜂群疾病的诱发：将病原菌混入饲料中通过饲喂的方式诱发疾病的发生。蜂群疾病诱发成功后记录病情指数（幼虫病害）或发病率（成年蜂病害）。

7.病例淘汰：试验期间，试验蜂群若发生严重的盗蜂、逃群、分蜂，以及其他蜜蜂疾病发生、敌害袭扰等，导致无法评价药效，应予以淘汰。

（二）试验药物

1.受试药物：受试药物应与拟上市的制剂完全一致，有完整的产品质量标准，有合乎规定格式的说明书。受试药物应来源于同一批号，由申报单位自行研制并在GMP验收合格的车间生产的样品，并提供中国兽医药品监察所或农业部认定的其他兽药检验机构出具的产品检验合格报告。

2.对照药物：对照药物应当是已经在我国批准上市，与受试药物属于同一类的药物，适应症相同、剂型相同、给药方式相同。由申报单位提供，并提供中国兽医药品监察所或农业部认定的其他兽药检验机构出具的产品检验合格报告。

（三）给药方案

按照受试药物拟在临床推荐的给药方案给药，包括给药方法、给药剂量、多次给药的给药间隔时间和疗程等。对照药物应严格按照批准的说明书给药。

1.配制含药物糖浆给药法：用饱和糖浆配制含药糖浆，在傍晚蜜蜂均回巢时饲喂，含药糖浆的饲喂量以蜂群在2日内食尽为宜。

2.配制含药花粉给药法：先用少量稀糖浆（糖：水＝1:2）将花粉粒湿润12小时，然后将药物均匀地拌入花粉中，再用浓糖浆（糖：水＝1:1）将含药花粉拌成花粉团。拌入糖浆量以花粉团用手稍捏紧指间无糖浆流出，松手花粉团不松散为宜。将含药花粉团压成饼状置于蜂箱内上框梁上供蜜蜂自行取食，饲喂量以蜂群在2日内食尽为宜。

（四）试验周期

试验周期为整个给药疗程（治疗期）加上停止给药后的21天时间。

（五）试验分组

1.选用人工诱发感染，单方制剂试验要求分成以下六组：

（1）空白对照（不感染不给药）组；

（2）感染不给药组（阴性对照组）；

（3）受试药物推荐剂量加倍组；

（4）受试药物推荐剂量组；

（5）受试药物推荐剂量减半组；

（6）药物对照组（阳性对照组）。

2.选用自然感染病例，单方制剂试验要求分成以下五组：

（1）空白对照（不感染不给药）组

（2）受试药物推荐剂量加倍组；

（3）受试药物推荐剂量组；

（4）受试药物推荐剂量减半组；

（5）药物对照组（阳性对照组）。

3.如为复方制剂还应增设单个药物的推荐剂量组。

（六）观察指标

详细观察记录试验开始后、给药前、给药后和停药后各处理组蜂群的群势变化情况、病情指数或发病率的变化情况，计算防治效果。

1.蜜蜂幼虫病情指数和药物防治效果的计算

蜜蜂幼虫病检查子脾时，按下表进行发病轻重程度分级。

|  |  |
| --- | --- |
| 病情级数 | 发病轻重程度 |
| 0级 | 子脾上未发现病虫 |
| 1级 | 病害虫数占总幼虫数﹤5％ |
| 2级 | 病害虫数占总幼虫数在5％～30％之间 |
| 3级 | 病害虫数占总幼虫数﹥30％ |



其中病情指数越大，说明病害越严重。

 对于人工诱发感染病例：

 对与自然感染病例：

 2.成年蜜蜂药物防治效果的计算

对于人工诱发感染病例：

 对与自然感染病例：

（七）统计分析

选择合适的统计分析程序，对数据进行分析。将受试药物组与对照组（包括空白对照组、药物对照组或感染不给药组）的防治效果进行x2检验，确定受试药物的治疗效果及其剂量。

（八）结果评价

临床药效试验结果按下列标准评价：

1.高效：疾病完全被控制，子脾上无病虫，防治效果≥90％。

2.中效：病情明显好转，子脾上病虫数极少，防治效果≥75％。

3.有效：病情有所好转，防治效果≥60％。

4.无效：用药后病情无明显好转，防治效果<60％。

三、试验报告

为公正、科学地评价药物疗效，对试验报告内容做如下要求：

1.试验目的。

2.试验时间与地点。

3.试验设计者、负责人、参加者姓名和电子邮箱。

4.试验蜂群应注明品种。

5.对照药物需注明兽药名称、生产厂家、规格、生产批号和用法与用量。受试药物需注明兽药名称、生产厂家、规格、生产日期和生产批号等。

6.总结评价该药物的疗效，确认受试药物的适应症、推荐剂量、给药方法、给药次数和给药间隔等。

7.试验数据，应有详细的试验原始记录。原始资料保存处、联系人、电话。

8.试验单位（加盖公章）。