**水产养殖用驱（杀）虫药物药效试验技术指导原则**

**一、概述**

水产养殖用驱（杀）虫药物的药效试验用于评价驱（杀）虫药物防治水产动物目标适应证的效果和发现可能存在的不良反应，以确定药物的有效性和给药方案。

本指导原则适用于水产养殖用驱（杀）虫药物的药效试验（II期临床试验），仅代表目前对水产养殖用驱（杀）虫药物药效试验研究的一般性认识，旨在为水产养殖用驱（杀）虫药物药效试验研究者和注册申请人制订、实施与监督药效临床试验等提供技术指导。

**二、试验设计原则**

试验应遵循《兽药临床试验质量管理规范》（兽药GCP）的规定。

试验设计应遵循“随机、对照、重复”的基本原则。随机，即按机遇原则进行分组、取样和试验；对照，进行试验研究必须设立对照组，通过对照来鉴别处理因素与非处理因素之间的差异，抵消或减少试验误差；重复，即试验结果要有重现性，要有重复例数和平行操作，且试验结果要有重现性。此外还应考虑均衡原则，均衡就是使对照组与试验组中的非处理因素尽量达到均衡一致，使处理因素的试验效应能更真实地反映出来。

不同的驱（杀）虫药物作用机制不同，各有特点，本指导原则不可能涵盖水产动物用驱（杀）虫药物药效试验研究的全部实际情况，当进行药效试验研究时应结合该药物的自身特点、试验水产动物及其感染疾病的种类，遵循“具体问题具体分析”的原则，根据实际情况确定药效试验的内容和顺序。

**三、基本内容**

（一）环境条件

每个试验水体应能保持环境稳定、不受外界环境突然变化或污染影响,相对独立。试验水体必须能满足水产动物的生理要求，单位试验水体体积一般不小于100L，放养密度应控制在不影响受试动物正常生理活动的范围。

试验用水的水质应符合GB11607《渔业水质标准》要求，自来水应曝气48h以上，天然水应自然沉淀24h再过滤后使用。一般应在以下表格中规定的条件下进行试验，特殊情况下按自然发病水温进行试验。

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **水产动物** | **水温（℃）** | **溶解氧（mg/L）** | **pH** | **盐度（‰）** |
| 淡水种类 | 温水性 | 18-28 | ≥5.0 | 6.5-8.0 | ≤5 |
| 冷水性 | 10-18 |
| 海水种类 | 温水性 | 20-30 | ≥4.0 | 7.5-8.5 | 15-35 |
| 冷水性 | 10-18 |

必要时可采取充气、换水、控温等措施满足以上规定的试验条件，试验期间应按要求定期测定并记录水温、pH、溶解氧或盐度(海水)等参数，试验用水的排放应符合兽药GCP相关要求。

（二）受试动物

根据试验的具体要求，合理选择相应种类的健康水产动物，受试动物来源于规范的水产养殖生产单位。试验前应在试验环境暂养1～2周。

试验用水产动物数量应满足统计学要求，一般规定每个试验组设3个平行，每个平行的试验动物最低数量：鱼类幼体（变态后与成体相似的幼体）30尾，成体15尾；虾、蟹、贝类幼体（变态后与成体相似的幼体）40只，成体20只；龟、鳖、蛙类幼体（变态后与成体相似的幼体）20只，成体10只。

（三）试验药物

1. 受试药物及来源

受试药物应与拟上市的制剂完全一致，有相应的产品质量标准。受试药物应采用一定规模生产的一个批次样品，产品处方、制备工艺、设备应与最终生产条件一致，并在GMP车间生产。

受试药物需有名称、生产厂家、生产批号、含量（或规格）、贮藏条件等信息，并具有农业农村部认定的检验机构出具的产品检验合格报告。

2. 对照药物及来源

对照药物应当已在我国批准上市，与受试药物作用相似、适应证相同的药物。对照药物由申报单位提供，并提供农业农村部认定的检验机构出具的产品检验合格报告。无符合要求的对照药物时，选择安慰剂作为对照药物。

（四）疾病模型选择

**1. 人工感染**

感染用的虫种可以为临床分离或采集的虫种，应详细记录其来源，且必须进行严格的病原鉴定。感染前需进行预试验。感染方法和途径可根据寄生虫体种类决定。感染量应根据预实验的结果，选择原则上能使90%以上动物感染的剂量，选取感染程度（症状表现、虫体密度等特征）基本一致的个体进行试验。以损伤或致死性的方式才能观察寄生虫感染情况的个体，感染率原则上应达到70%。

也可采用健康动物与自然感染个体进行同居感染，但应对所用的自然感染个体的致病虫体进行分离鉴定，以便确定病原种类。

**2. 自然感染**

采用自然感染的水产动物，应制订自然感染病例入选条件。通过临床症状、病理剖检、致病虫种的鉴定，确诊为试验所需致病虫体感染的发病动物才能作为试验病例，各组试验病例的发病严重程度应基本一致。

人工感染和自然感染病例的确诊：水产动物体表及鳃丝感染的虫体，试验前应随机抽取水产动物样品不少于10尾（只），轻轻刮取体表粘液或剪取小块鳃丝涂片镜检，感染率原则上应达到90%以上。水产动物体内感染的虫体，试验前应随机抽取水产动物样品不少于10尾（只），进行剖杀后检查组织或器官中虫体数，感染率原则上应达到70%。

**3．体外杀虫试验**

特殊情况下，可进行离体（体外）杀虫试验。如中华鳋或多态锚头鳋，采集成虫若干，在适宜条件下孵化后，收集幼虫进行体外杀虫试验。

（五）试验分组

试验组数取决于驱（杀）虫药物的类型、疾病的特征以及有效剂量的筛选等因素，试验应满足如下分组要求：

1. 不感染不给药对照组；

2. 感染不给药对照组；

3. 对照药物组，应按照批准的给药方案给药。

4. 受试药物组 根据受试药物剂量筛选的试验结果，确定给药剂量，至少设高、中、低三个剂量组，中剂量一般为拟推荐剂量。

如受试药物为复方制剂，药物对照组应根据组方中各主要成分，分别设单方药物的推荐剂量对照组。

（六）给药方案

临床试验一般采用该药拟推荐的给药方案。受试药物若有多种给药方式，应该对每种给药方式分别进行试验。

（七）观察时间

根据寄生虫的生活史，结合受试药物的药效学、受试动物、药效试验研究方案等确定观察时间点和观察时长。一般要求在停止给药后继续观察，口服驱虫药物时间不得少于10天，浸浴杀虫药物时间不得少于7天。

（八）观察指标

给药前进行寄生虫学检查，按不同种类的寄生虫，分别检查受试动物的体表、鳃、血液、肠道等器官或组织，分类鉴定并计数。

给药后及时观察受试动物健康状况、行为特征和摄食情况，必要时进行生理生化指标检查。记录给药前后每天动物的死亡数。

驱杀体表寄生虫试验给药后，应定期随机抽样检查虫体存活情况，并分类鉴定计数，同时记录平均残存虫体数及残存虫体动物数。

驱杀体内寄生虫试验结束后，将全部试验水产动物剖杀，检查残存的虫体或虫卵，分类鉴定并计数，同时记录平均残存虫体数及残存虫体动物数。

**四、数据处理与效果评价**

（一）数据处理

应根据详细的试验记录，计算驱（杀）虫率、驱净率以及受试动物的日死亡率、总死亡率。公式如下：

驱（杀）虫率（%）=（感染不给药对照组平均残留存活虫体数-受试药物组平均残留存活虫体数）/感染不给药对照组平均残留存活虫体数×100%；

驱净率（%）= 驱净虫体的动物数/全部试验动物数×100%；

日死亡率（%）=每日死亡动物数/全部试验动物数×100%。

总死亡率（%）=试验期间死亡动物总数/全部试验动物数×100%。

 (二) 效果评价

1. 试验的可靠性：在整个试验中，对照药物组必须有效，感染不给药组感染率原则上应达到70%以上，不感染不给药组死亡率≤5%。

2. 试验的有效性：将受试药物组间、受试药物组与对照药物组进行比较，对驱（杀）虫率、驱净率、死亡率等数据进行统计分析。评价指标根据疾病发生的具体情况选择。常用的生物统计方法有t检验、x2检验和方差分析等，应根据实际情况进行选用。

3. 结论：确认受试药物对本适应证的治疗效果及其推荐剂量；并提出临床应用该药物的注意事项、不良反应以及药物的相互作用等。

**五、试验报告**

为公正、科学地评价药物的临床疗效，试验报告应包括如下内容：

1. 试验目的；

2. 试验时间与地点；

3. 试验设计者、负责人、主要试验人员及联系方式；

4. 试验条件：如水温、溶解氧、pH、盐度等；

5. 受试药物需注明药物名称、生产厂家、生产批号、含量（或规格），对照药物还需注明用法用量；

6. 试验动物的品种、来源、体重或体长、年龄、健康状况及检疫情况等；

7. 试验分组、感染方案、给药方案等；

8. 试验观察现象与结果、数据处理与效果评价等；

9. 结论；

10. 参考文献；

11. 试验单位（加盖公章）；

12. 应归档保存原始资料，并注明保存地点、联系人及联系电话。