

文章编号:1000-7423(2010)-01-0008-04

【论著】

三苯双脒和阿苯达唑治疗感染旋毛虫小鼠的疗效观察

薛剑, 肖树华*, 徐莉莉, 张永年, 强慧琴

【摘要】 目的 观察三苯双脒和阿苯达唑对感染旋毛虫小鼠的疗效。方法 将 85 只昆明小鼠(每鼠感染旋毛虫幼虫 100 条)分成 3 组, A 组(成虫期, 即感染后 5 d)、B 组(幼虫移行期, 即感染后 15 d)和 C 组(幼虫成囊期, 即感染后 35 d)。A 组小鼠 35 只, 均分为 7 组, 三苯双脒和阿苯达唑各治疗 3 组, 两药给药剂量相同, 分别为顿服 6.25、12.5 和 25 mg/kg, 另设 1 组为对照组。B、C 两组各 25 只小鼠, 各均分为 5 组, 三苯双脒和阿苯达唑各治疗 2 组, 两药给药剂量相同, 分别为 100 和 200 mg/(kg·d), 另各设 1 组为对照组。A 组小鼠治疗后 2 d 处死, 计数小肠内成虫。B、C 两组小鼠连续治疗 7 d, 治疗结束后 15 d 处死, 剖取全部膈肌, 消化液消化, 镜下计数幼虫。计算各组平均虫数和减虫率, 统计分析各组治疗效果。结果 A 组, 三苯双脒各组平均成虫数均显著少于对照组($P<0.01$), 减虫率分别为 63.3%、86.2% 和 98.5%; 阿苯达唑 6.25 和 12.5 mg/kg 组的平均成虫数与对照组的差异无统计学意义($P>0.05$), 但 25 mg/kg 组的平均成虫数则少于对照组($P<0.05$), 减虫率为 41.2%。B 组, 两种药物平均虫数都显著少于对照组($P<0.01$), 三苯双脒治疗组减虫率分别为 64.4% 和 89.6%, 阿苯达唑组减虫率分别为 56.7% 和 78.4%。C 组, 仅阿苯达唑 200 mg/(kg·d) 组的平均幼虫(成囊期)数显著少于对照组($P<0.01$), 减虫率为 71.8%, 其余各组均无效。结论 三苯双脒对小鼠旋毛虫成虫和移行期幼虫有较好的疗效, 但对成囊期幼虫无效。较大剂量阿苯达唑对小鼠旋毛虫成虫、移行期和成囊期幼虫均有效。

【关键词】 三苯双脒; 阿苯达唑; 旋毛虫; 成虫; 幼虫移行期; 幼虫成囊期; 疗效

中图分类号: R383.15

文献标识码: A

Efficacy of Tribendimidine and Albendazole in Treating Mice Infected with *Trichinella spiralis*

XUE Jian, XIAO Shu-hua*, XU Li-li, ZHANG Yong-nian, QIANG Hui-qin

(National Institute of Parasitic Diseases, Chinese Center for Disease Control and Prevention; Key Laboratory of Parasite and Vector Biology, MOH; WHO Collaborating Centre for Malaria, Schistosomiasis and Filariasis, Shanghai 200025, China)

【Abstract】 **Objective** To observe the efficacy of tribendimidine and albendazole against *Trichinella spiralis* in mice. **Methods** A total of 85 Kunming strain mice, infected orally with 100 *T. spiralis* larvae, was divided into 3 groups: group A (adult stage, 7 d after infection), group B (migrating larva stage, 15 d after infection), and group C (encapsulated larva stage, 35 d after infection). Group A (35 mice) was equally divided into 7 sub-groups, tribendimidine and albendazole were each orally administered to 3 sub-groups both with doses of 6.25, 12.5, and 25 mg/kg respectively, the untreated sub-group served as control. Groups B and C (25 mice each) were both divided equally into 5 sub-groups. Mice in 2 sub-groups were treated respectively with the 2 drugs in a dose of 100 or 200 mg/kg, the untreated sub-group served as control. Mice in group A were sacrificed 2 d post-treatment and adult worms recovered from the small intestine were counted. Those in groups B and C were sacrificed 15 d post-treatment and intact diaphragm was then removed from each mouse. The muscle of diaphragm was digested by digestive solution and the larvae were counted by stereomicroscope. Mean worm burden and mean worm reduction of each treated group were calculated and statistically compared with the control. **Results** The mean worm burden in sub-groups of group A treated with tribendimidine was significantly lower than that of the control ($P<0.01$) with a mean worm reduction of 63.3%, 86.2%, and 98.5%, respectively. In the same

作者单位: 中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所, 卫生部寄生虫病原与媒介生物学重点实验室, 世界卫生组织疟疾、血吸虫病和丝虫病合作中心, 上海 200025

* 通讯作者, E-mail: shxiao4@hotmail.com

batch of mice treated with albendazole at a single dose of 6.25 and 12.5 mg/kg resulted in similar mean worm burden compared to the control ($P<0.05$). While in the sub-group received albendazole at a higher dose of 25 mg/kg, the mean worm burden was significantly lower than that of the control ($P<0.05$), with a mean worm reduction of 41.2%. The mean worm burden in group B was significantly lower than that of the control ($P<0.01$). The mean worm reduction in the 2 sub-groups treated with tribendimidine or albendazole was 64.4% and 89.6%, or 56.7% and 78.4%, respectively. In group C, significantly lower mean worm burden was only found in the subgroup treated with albendazole at a higher dose of 200 mg/kg than the control ($P<0.01$) with a mean worm reduction of 71.8%. No effect was seen in the other 3 groups. **Conclusion** Tribendimidine exhibits potential effect against adult and migrating larva stage of *T. spiralis* in mice, but lacks effect against encapsulated larva stage of the parasite. Albendazole administered at a larger or multiple doses to mice endorses effect against its adult, migrating larva and encapsulated larva stages.

【Key words】 Tribendimidine; Albendazole; *Trichinella spiralis*; Adult stage; Migrating larva; Encapsulated larva; Efficacy

* Corresponding author, E-mail: shxiao4@hotmail.com

旋毛虫病是一种人兽共患寄生虫病,呈世界性分布,以欧洲和北美洲的发病率较高。我国是世界上旋毛虫病危害严重的国家之一,主要流行于西南、中原和东北地区。1964–2004年,我国出现旋毛虫病暴发600余起,死亡250余例,严重危害人体健康和畜牧业的发展^[1-4]。20世纪60年代前因无特效治疗药物,主要采用支持疗法。1961年发现广谱驱虫药噻苯达唑对旋毛虫(*Trichinella spiralis*)的成虫、移行期幼虫和成囊期幼虫有效,开始了旋毛虫病的化学治疗。其后,动物试验发现噻苯达唑治疗效果很差^[5],临床不良反应较大,已淘汰。转而对噻苯达唑的同类化合物(甲苯达唑和阿苯达唑等)进行实验研究和临床观察,证实这两种药物对旋毛虫的幼虫和成虫均有效,同时由于阿苯达唑的吸收较好,不良反应小,已成为治疗旋毛虫病的首选药物^[6],但其用药剂量大,疗程长,故仍需继续寻找新的抗旋毛虫药物。

三苯双脒是我国研制的氨基苯脒类广谱抗肠道蠕虫新药,对动物的多种肠道线虫有效,对人蛔虫、钩虫和蛲虫都有很好的治疗效果,驱虫作用迅速,不良反应轻微,无致突变性和致畸性^[7,8]。其肠溶片于2004年通过中国食品药品监督管理局审评,获新药证书和生产许可证。近年来通过动物试验和临床观察,证实三苯双脒对华支睾吸虫(*Clonorchis sinensis*)、麝猫后睾吸虫(*Opisthorchis viverrini*)、卡氏棘口吸虫(*Echinostoma caproni*)、鼠类圆线虫(*Strongyloides ratti*)、粪类圆线虫(*Strongyloides stercoralis*)和带绦虫(*Taenia* spp.)等均有效^[9-13]。本研究对三苯双脒和阿苯达唑治疗感染旋毛虫小鼠的疗效进行观察。

材料与方 法

1 旋毛虫来源

取2只感染旋毛虫的小鼠(本所保种),处死后

剪碎肌肉和骨骼,置于消化液(含2%胃蛋白酶和0.7%盐酸的生理盐水)中,37℃消化10h,生理盐水反复洗涤含有感染期旋毛虫幼虫的沉淀5次,加入适量明胶,充分混匀。取50μl混悬液5份,镜下计数幼虫,调整混悬液中的幼虫密度,至每0.15ml含100条幼虫,用于感染昆明小鼠。

2 动物感染

雌性昆明小鼠85只(SPF级),体重18~22g,购自中国科学院上海实验动物中心,每鼠灌胃感染旋毛虫幼虫100条,实验期间小鼠自由取食和饮水。

3 药物配制

三苯双脒(批号051120)由山东新华制药股份有限公司提供。阿苯达唑(批号041001)购自陕西汉江制药股份有限公司。两种药物均用7%吐温80和3%乙醇溶液配制成浓度为0.625、1.25、2.5、10和20g/L的混悬液。

4 治疗分组

各组小鼠均以灌胃法给药,剂量为10ml/kg。根据旋毛虫在小鼠体内的不同发育阶段将85只感染小鼠分3组,A组(成虫期,即感染后5d)、B组(幼虫移行期,即感染后15d)和C组(幼虫成囊期,即感染后35d)。A组35只小鼠,均分为7组,三苯双脒和阿苯达唑各治疗3组,两药给药剂量相同,分别为顿服6.25、12.5和25mg/kg,另设1组为无药对照组。B、C两组各25只小鼠,各均分5组,三苯双脒和阿苯达唑各治疗2组,给药剂量相同,分别为100和200mg/(kg·d),另各设1组为无药对照组。

5 疗效观察

A 组小鼠治疗后 2 d 处死，剖取小肠，纵向剪开，内壁朝下平铺于尼龙筛网中，筛网底部置于 37 ℃生理盐水中温浴 2 h，取沉淀，镜下计数成虫，计算减虫率。减虫率=[(对照组平均虫数-治疗组平均虫数)/对照组平均虫数]×100%，以平均虫数和减虫率评价药物的疗效。

B、C 组小鼠连续给药 7 d，治疗结束后 15 d 处死，剖取膈肌剪碎，置 15 ml 离心管中，37 ℃下 10 ml 消化液消化 12 h，肌肉组织全部消化后，去上清，镜下计数沉淀中的幼虫，药物疗效评价方法同上。

6 统计学分析

采用 Microsoft Office Excel(2003)软件进行统计学分析，计算各组的平均虫数与标准差($\bar{x} \pm s$)，*t* 检验比较各组平均虫数的差异。

结 果

1 三苯双脒和阿苯达唑对小鼠感染旋毛虫成虫期疗效

A 组，三苯双脒各治疗组平均虫数均显著少于对照组($P < 0.01$)，减虫率分别为 63.3%、86.2%和 98.5%，其中 25 mg/kg 组中有 4 鼠被治愈。阿苯达唑治疗组中，6.25 和 12.5 mg/kg 组平均虫数亦少于对照组，但差异无统计学意义($P < 0.05$)，仅 25 mg/kg 组的平均虫数低于对照组，减虫率为 41.2%，差异有统计学意义($P < 0.05$) (表 1)。

表 1 三苯双脒和阿苯达唑顿服治疗小鼠感染旋毛虫成虫的疗效
Table 1 Effect of tribendimidine (TBD) and albendazole (ABZ) given orally at a single dose to mice infected with adult *Trichinella spiralis*

组别 Group	剂量 Dose (mg/kg)	试验鼠数 No. mice	平均虫数 Mean worm burden	减虫率 Worm reduction (%)
对照 Control	-	5	68.0±18.5	-
三苯双脒 TBD	6.25	5	23.6±7.3**	63.3
	12.5	5	9.4±6.8**	86.2
	25	5	1.0±1.2**	98.5
阿苯达唑 ABZ	6.25	5 [△]	50.5±38.0	25.7
	12.5	5	59.8±15.9	12.1
	25	5	40.0±17.7*	41.2

注：与对照组相比，* $P < 0.05$ ，** $P < 0.01$ ； Δ ：1 鼠于治后死亡。
Note: vs control, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; Δ : One mouse died after treatment.

2 三苯双脒和阿苯达唑对小鼠感染移行期幼虫的疗效

B 组，三苯双脒治疗组小鼠平均虫数均显著少于对照组 ($P < 0.01$)，减虫率分别为 64.4%和 89.6%。阿苯达唑 100 mg/(kg·d) 治疗组小鼠平均虫数少于对照组 ($P < 0.05$)，减虫率为 56.7%，而阿苯达唑 200 mg/(kg·d) 治疗组的平均虫数显著少于对照组 ($P < 0.01$)，减虫率为 78.4% (表 2)。

表 2 三苯双脒和阿苯达唑多剂口服给药对小鼠感染旋毛虫移行期幼虫的疗效

Table 2 Effect of tribendimidine (TBD) and albendazole (ABZ) given orally at multiple doses to mice infected with *Trichinella spiralis* in migrating larva stage

组别 Group	剂量 Dose mg/(kg·d)×d	试验鼠数 No. mice	平均虫数 Mean worm burden	减虫率 Worm reduction (%)
对照 Control	-	5	365±134	-
三苯双脒 TBD	100×7	5	130±52*	64.4
	200×7	5	38±13*	89.6
阿苯达唑 ABZ	100×7	5	158±80	56.7
	200×7	5	79±43*	78.4

注：与对照组相比，* $P < 0.01$ 。

Note: vs control, * $P < 0.01$.

3 三苯双脒和阿苯达唑对小鼠感染成囊期幼虫的疗效

C 组，三苯双脒 100 mg/kg 治疗组的小鼠平均虫数略多于对照组，200 mg/kg 治疗组的小鼠平均虫数少于对照组，但差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。阿苯达唑 100 mg/kg 治疗组的平均虫数与对照组相仿，但 200 mg/kg 治疗组的平均虫数则显著少于对照组 ($P < 0.01$)，减虫率为 71.8% (表 3)。

表 3 三苯双脒和阿苯达唑多剂口服给药对小鼠感染旋毛虫成囊期幼虫的疗效

Table 3 Effect of tribendimidine (TBD) and albendazole (ABZ) given orally at multiple doses to mice infected with *Trichinella spiralis* in encapsulated larva stage

组别 Group	剂量 Dose mg/(kg·d)×d	试验鼠数 No. mice	平均虫数 Mean worm burden	减虫率 Worm reduction (%)
对照 Control	-	5	351±65	-
三苯双脒 TBD	100×7	5	404±121*	-
	200×7	5	314±129*	10.5
阿苯达唑 ABZ	100×7	5	392±258*	-
	200×7	5	99±92**	71.8

注：与对照组相比，* $P > 0.05$ ，** $P < 0.01$ 。

Note: vs control, * $P > 0.05$, ** $P < 0.01$.

讨 论

三苯双脒是一种广谱抗蠕虫药物，寄生虫对该药物的敏感性与虫种、发育阶段以及宿主的体重和体表面积均有关，如三苯双脒治愈感染巴西日本圆线虫的大鼠的剂量为 50 mg/kg^[7,8]，而接近治愈感染华支睾吸虫大鼠的剂量为 300 mg/kg^[10]；三苯双脒 25 mg/kg 可治愈感染鼠类圆线虫成虫的大鼠，但剂量高至 50 mg/kg 时对该虫的组织移行期幼虫仍无效^[12]。因此，本研究在预试验的基础上，设计了不同剂量，疗程对旋毛虫成虫和幼虫的作用。因阿苯达唑是目前临床治疗旋毛虫感染的首选药物，故选用阿苯达唑作比较观察。

单剂三苯双脒对小鼠旋毛虫成虫感染有较好的疗效，减虫率随所用剂量的增加而递增，顿服 25 mg/kg

可接近治愈。但阿苯达唑顿服低剂量 6.25 和 12.5 mg/kg 的疗效很差或无效, 即使剂量增至 25 mg/kg, 减虫率仍低于 50%。文献报道感染旋毛虫成虫的小鼠顿服阿苯达唑 30 mg/kg 的减虫率是 92.3%^[14], 但也有报道口服阿苯达唑 65.9 mg/(kg·d), 连服 2 d 的减虫率仅为 57.6%^[15]。与阿苯达唑相比, 旋毛虫成虫对三苯双脒较敏感。在较大剂量和较长疗程下, 三苯双脒和阿苯达唑对旋毛虫移行期幼虫的疗效相似。由于该期幼虫是在宿主肌肉内移行寄生, 与成虫寄生于肠道可直接接触药物有所不同, 即只有在药物被吸收和分布于肌肉组织时才能对该期幼虫起作用, 受药代动力学影响, 在相应的疗效下三苯双脒治疗移行期幼虫所需的剂量较治疗成虫的剂量增加 15 倍, 疗程亦由顿服增至 7 d。由于口服三苯双脒肠溶片后未能在血液中检测到三苯双脒原药, 只有代谢物氨脒^[16], 而氨脒已被证实为三苯双脒抗美洲钩虫(未发表资料)和华支睾吸虫的有效代谢物^[17], 因此推测氨脒可能是抗旋毛虫移行期幼虫的有效代谢物, 这与口服阿苯达唑后, 其有效代谢物阿苯达唑亚砷的治疗作用相似^[18]。但相同剂量和疗程的三苯双脒治疗旋毛虫成囊期幼虫却无效, 这是否与三苯双脒的有效代谢物氨脒难以通过囊壁, 未能作用于幼虫有关, 值得进一步探讨。另一方面, 阿苯达唑也仅在大剂量 200 mg/(kg·d) 连续治疗 7 d 的情况下才有中等疗效, 表明旋毛虫幼虫在肌肉组织内形成囊包后, 囊壁的存在制约了阿苯达唑的疗效^[19]。综上所述, 广谱抗蠕虫新药三苯双脒具有抗小鼠感染旋毛虫的作用, 并为临床观察三苯双脒治疗旋毛虫病提供了实验依据。

致谢 本研究得到中国疾病预防控制中心寄生虫病预防控制所资助。

参 考 文 献

- [1] Yu SH, Xu LQ, Jiang ZX, et al. Report on the first nationwide survey of the distribution of human parasites in China I. Regional distribution of parasite species [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 1994, 12(4): 241-247. (in Chinese)
(余森海, 许隆琪, 蒋则孝, 等. 首次全国人体寄生虫病分布调查报告 I. 虫种的地区分布 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1994, 12(4): 241-247.)
- [2] Coordinating Office of the National Survey on the Important Human Parasitic Diseases. A national survey on current status of the important parasitic diseases in human population [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2005, 23(5 Suppl): 332-340. (in Chinese)
(全国人体重要寄生虫病现状调查办公室. 全国人体重要寄生虫病现状调查报告 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005, 23(5增刊): 332-340.)
- [3] Liu MY. Trichinosis in China and progress in collaborative research of China and Europe [J]. Animal Hlth, 2006, (10): 16-19. (in Chinese)
(刘明远. 我国的旋毛虫病及中欧合作研究进展 [J]. 动物保健, 2006, (10): 16-19.)
- [4] Cui J, Wang ZQ. Epidemiological trends and control measures of trichinellosis [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2005, 23(5 Suppl): 344-348. (in Chinese)
(崔晶, 王中全. 我国旋毛虫病的流行趋势及防治对策 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005, 23(5增刊) 344-348.)
- [5] Wang XG, Liu YH, Wang QN, et al. Treatment of experimental trichinosis in mice by benzimidazole derivatives [J]. Acta Chongqing Med Coll, 1985, 10(4): 249-251. (in Chinese)
(王小根, 刘约翰, 王其南, 等. 苯咪唑类药物治疗小鼠旋毛虫感染的对比观察 [J]. 重庆医学院学报, 1985, 10(4): 249-251.)
- [6] Yang WP, Wu ZX. Chemical Agents in Control of Human Parasitic Diseases [M]. Nanjing: Publishing House of Dongnan University, 2004: 278-284. (in Chinese)
(杨维平, 吴中兴. 人体寄生虫病化学药物防治 [M]. 南京: 东南大学出版社, 2004: 278-284.)
- [7] Xiao SH, Wu HM, Wang C. Tribendimidine: a new and broad-spectrum anthelmintic drug [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2004, 22(5): 312-315. (in Chinese)
(肖树华, 吴惠敏, 王翀. 三苯双脒一种新的广谱抗肠道蠕虫新药 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2004, 22(5): 312-315.)
- [8] Xiao SH, Wu HM, Tanner M, et al. Tribendimidine: a promising, safe and broad-spectrum anthelmintic agent from China [J]. Acta Trop, 2005, 94(1): 1-14.
- [9] Keiser J, Xiao SH, Chollet J, et al. Evaluation of the *in vivo* activity of tribendimidine against *Schistosoma mansoni*, *Fasciola hepatica*, *Clonorchis sinensis*, and *Opisthorchis viverrini* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51(3): 1096-1098.
- [10] Xiao SH, Xue J, Tanner M, et al. Artemether, artesunate, praziquantel and tribendimidine administered singly at different dosages against *Clonorchis sinensis*: A comparative *in vivo* study [J]. Acta Trop, 2008, 106(1): 54-59.
- [11] Keiser J, Xiao SH, Utzinger J. Effect of tribendimidine on adult *Echinostoma caproni* harbored in mice, including scanning electron microscopic observations [J]. J Parasitol, 2006, 92(4): 858-862.
- [12] Keiser J, Thiemann K, Endriss Y, et al. *Strongyloides ratti*: *in vitro* and *in vivo* activity of tribendimidine [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2008, 2(1): e136.
- [13] Steinmann P, Zhou XN, Du ZW, et al. Tribendimidine for treating *Strongyloides stercoralis* and *Taenia* spp. infections: open label trial in China [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2008, 2(10): e322.
- [14] Zhang YN, Chen SH, Chen YQ, et al. Preliminary observation of the effect of aminophenylamine compound, a new helminthic, on *Trichinella spiralis* in mice [J]. Chin J Vet Parasitol, 2007, 15(2): 9-11. (in Chinese)
(张永年, 陈韶红, 陈耀青, 等. 新型广谱驱虫药氨基苯脒类化合物对感染旋毛虫小鼠的疗效的初步观察 [J]. 中国兽医寄生虫病, 2007, 15(2): 9-11.)
- [15] Wang XG, Liu YH, Wang QN, et al. Treatment of experimental trichinosis in mice by benzimidazole derivatives [J]. Acta Chongqing Med Coll, 1985, 16(4): 249-251. (in Chinese)
(王小根, 刘约翰, 王其南, 等. 苯咪唑类药物治疗小鼠旋毛虫感染的对比观察 [J]. 重庆医学院学报, 1985, 16(4): 249-251.)
- [16] Yuan GY, Wang BJ, Wei CM, et al. LC-MS determination of p-(1-Dimethylamino ethylimino)aniline: a metabolite of tribendimidine in human plasma [J]. Chromatographia, 2008, 68(1-2): 139-142.
- [17] Xiao SH, Xue J, Xu LL, et al. The *in vitro* and *in vivo* effect of tribendimidine and its metabolites against *Clonorchis sinensis* [J]. Parasitol Res, 2009, 105(6): 1497-1507.
- [18] Lopez-Garcia ML, Torrado-Duran S, Torrado-Duran J, et al. Albendazole versus ricobendazole (albendazole-sulphoxide) against enteral and parenteral stages of *Trichinella spiralis* in mice [J]. Int J Parasitol, 1997, 27(7): 781-785.
- [19] Siritiyasatien P, Yingyoud P, Nuchprayoon S. Efficacy of albendazole against early and late stage of *Trichinella spiralis* infection in mice [J]. J Med Assoc Thai, 2003, 86(Suppl 2): 257-262.
(收稿日期: 2009-05-06 编辑: 衣凤芸)