

1146 组胺类物质检查法

本法系比较组胺对照品 (S) 与供试品 (T) 引起豚鼠离体回肠收缩的程度, 以判定供试品中所含组胺类物质的限度是否符合规定。

对照品溶液的制备 精密称取磷酸组胺对照品适量, 按组胺计算, 加水溶解成每 1ml 中含 1.0mg 的溶液, 分装于适宜的容器内, 4~8℃ 贮存, 经验证在确保收缩活性符合要求的前提下, 可在 3 个月内使用。

对照品稀释液的制备 试验当日, 精密量取组胺对照品溶液适量, 用氯化钠注射液按高、低剂量组 (d_{S2} 、 d_{S1}) 配成两种浓度的稀释液, 高剂量 d_{S2} 应不致使回肠收缩达到极限, 低剂量 d_{S1} 所致反应值约为高剂量的一半, 调节剂量使反应可以重复出现。一般组胺对照品浴槽中的终浓度为 $10^{-7} \sim 10^{-9}$ g/ml, 注入体积一般 0.2~0.5ml 为宜, 高低剂量的比值 (r) 为 1:0.5 左右。调节剂量使低剂量能引起回肠收缩, 高剂量不致使回肠收缩达极限, 且高低剂量所致回肠的收缩应有明显差别。

供试品溶液的配制 按品种项下规定的限值, ~~照对照品稀释液低剂量 (d_{S1}) 制成适当的浓度。试验时, 一般供试品溶液与对照品稀释液的注入体积应相等。~~且供试品溶液与对照品溶液的注入体积应相等的要求, 制备适当浓度的供试品溶液。

供试品组胺溶液的的制备

取同一支组胺对照品溶液, 按高、低剂量组 (d_{S2+T} 、 d_{S1+T}) 加供试品溶液配成两种浓度的稀释液, 且供试品组胺溶液的高低剂量 (d_{S2+T} 、 d_{S1+T}) 应与组胺对照品溶液的高、低剂量 (d_{S2} 、 d_{S1}) 一致。

回肠肌营养液的制备 A 液: 试验当日, 取氯化钠 160.0g、氯化钾 4.0g、氯化钙 (按无水物计算) 2.0g、氯化镁 (按无水物计算) 1.0g 与磷酸氢二钠 (含 12 个结晶水) 0.10g, 加纯化水 700ml 使溶解, 再加入注射用水适量, 使成 1000ml。
B 液: 取硫酸阿托品 0.5mg、碳酸氢钠 1.0g、葡萄糖 (含 1 个结晶水) 0.5g, 加

适量注射用水溶解，加 A 液 50.0ml，混合后加注射用水使成 1000ml，调节 pH 值至 7.2~7.4。B 液应临用前制备。

检查法 取健康合格的成年豚鼠，雌雄均可，雌者无孕，体重 250~350g，禁食 24 小时，迅速处死，立即剖腹取出回肠一段（选用远端肠段，该段最敏感）仔细分离肠系膜，注意避免因牵拉使回肠受损，剪取适当长度，用注射器抽取 **上述溶液回肠肌营养 B 液**，小心冲洗去除肠段的内容物。将肠段下端固定于离体器官恒温水浴装置的浴槽底部，上端用线与记录装置相连；浴槽中事先放入一定量的 **回肠肌营养 B 液**（约 10~30ml），连续通入 95%O₂ 和 5%CO₂ 的混合气体，维持恒温（34~36℃），用适当方法记录该回肠收缩幅度。如果使用杠杆，其长度应能使肠段的收缩放大约 20 倍。选择 1g 左右的预负荷，可根据其灵敏度加以调节。回肠放入浴槽后，静置约 15~30 分钟，方可开始注入药液。每次注入药液前，要用 **回肠肌营养 B 液** 冲洗浴槽 2-3 次。相邻两次给药的间隔时间应一致（约 2 分钟），每次给药前应在前一次反应恢复稳定后进行。

在上述高低剂量范围内选定对照品稀释液的剂量（ d_{S2} 、 d_{S1} ）和供试品溶液按品种项下规定的剂量（ d_T ），照下列次序准确注入浴槽 6 个剂量： d_{S2} 、 d_{S1} 、 d_T 、 d_T 、 d_{S1} 、 d_{S2} ，如 d_{S2} 所致的反应值大于 d_{S1} 所致反应值并且可重复时判定试验有效。如供试品溶液引起回肠收缩，分别将第二个剂量 d_{S1} 与第四个剂量 d_T 、第五个剂量 d_{S1} 与第三个剂量 d_T 所致反应值进行比较，若 d_T 所致反应值均不大于 d_{S1} 所致反应值，即判定供试品组胺类物质检查符合规定；若 d_T 所致反应值均大于 d_{S1} 所致反应值，即判定供试品组胺类物质检查不符合规定；否则应另取动物按初试方法进行复试，复试结果若 d_T 所致反应值均不大于 d_{S1} 所致反应值，即判定供试品组胺类物质检查符合规定；只要一个 d_T 所致反应值大于 d_{S1} 所致反应值，即判定供试品组胺类物质检查不符合规定。如供试品不引起回肠收缩，**则按照限值剂量在供试品溶液中加入组胺对照品高、低剂量，并**按下列次序准确注入 d_{S2} 、 d_{S1+T} 、 d_{S2+T} 、 d_{S1} ，重复一次，若供试品组胺溶液 **高低剂量（ d_{S2+T} 、 d_{S1+T} ）** 产生的收缩与对应组胺对照液高、低剂量（ d_{S2} 、 d_{S1} ）的收缩 **反应** 基本一致，可判定供试品组胺类物质检查符合规定；若供试品组胺溶液产生的收缩与对应组胺对照液高、低剂量的收缩

不相符，即减少或无收缩，或不能重复出现，则此试验结果无效，应另取动物重试。组胺类物质检查不能得到有效结果时，可进行供试品的降压物质检查。

征求意见稿