

## 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,加水溶解并定量稀释制成每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 $d_{s1}$ 应能引起回肠收缩并且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 $10^{-7}$ ~ $10^{-9}$ 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有明显差别。

**供试品溶液的制备** 按品种项下规定的限量值,照对照品稀释液低剂量( $d_{s1}$ )配成适当的浓度。试验时,一般且供试品溶液与对照品稀释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,加注射用纯化水700ml使溶解,再加入注射用水纯化水适量,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,加适量注射用水纯化水使溶解,加A液50.0ml,混合后加注射用水纯化水使成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,仔细分离肠系膜。剪取2~3cm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),连续通入适量95%O<sub>2</sub>和5%CO<sub>2</sub>的混合气体或空气,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( $d_{s1}$ 、 $d_{s2}$ )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，~~则应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 $d_{s2}$ 、 $d_{s1+T}$ 、 $d_{s1+T}$ 、 $d_{s1}$ ，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（ $d_{s1}$ 、 $d_{s2}$ ）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。