

9301 ~~兽用化学药品~~注射剂安全性检查法应用指导原则

本指导原则为兽用化学药品~~注射剂~~临床使用的安全性和制剂质量可控性而定。~~设立安全性检查项目是为了控制药品兽药中杂质和/或有毒污染物的风险，应基于全生命周期的管理理念，并采用风险评估方法，综合考虑药品兽药的特性、工艺流程和预定用途等因素，对可能产生的杂质和/或有毒污染物进行充分的识别和控制，确定是否设立相应的检查项目。~~

注射剂安全性检查~~一般~~包括异常毒性、细菌内毒素（或热原）、降压物质（包括组胺类物质）、过敏反应、~~溶血与凝聚~~等项。根据处方、工艺、用法及用量等设定相应的检查项目并进行适用性研究。其中，细菌内毒素检查与热原检查项目间、降压物质检查与组胺类物质检查项目间，可以根据适用性研究结果相互替代，~~一般~~选择两者之一作为检查项目。

一、安全性检查项目的设定

1. 静脉用注射剂

静脉用注射剂，~~均应设细菌内毒素（或热原）检查项。兽用化学药品注射剂一般首选细菌内毒素检查项。应设立致热物质检查项目。检查法的选择应结合兽药的特性与生产工艺，进行致热物质来源分析和风险评估。内毒素来源的致热物质可采用细菌内毒素检查法或热原检查法，非内毒素来源的致热物质可选择热原检查法。也可采用单核细胞活化反应测定（monocyte activation test, MAT）等替代方法。~~

所用原料系动物来源或微生物发酵液提取物~~时~~，组分结构不清晰或有可能污染毒性杂质且又缺乏有效的理化分析方法的静脉用注射剂，应考虑设立异常毒性检查项。~~在已有充分的安全性数据支持，且工艺稳健，实施有效的全面质量控制措施的前提下，证明产品异常毒性风险可控，或因药物本身毒性等因素不适合进行异常毒性检查的，可不设立该项检查。~~

所用原料系动物来源或微生物发酵液提取物时，组分结构不清晰且有可能污染异源蛋白或未知过敏反应物质的静脉用注射剂，如缺乏相关的理化分析方法且临床发现过敏反应，应考虑设立过敏反应检查项。

所用原料系动物来源或微生物发酵液提取物时，组分结构不清晰或有可能污染组胺、类组胺样降压物质的静脉用注射剂，如缺乏相关的理化分析方法且临床发现类过敏反应，应考虑设立降压物质或组胺类物质检查项。检查项目一般首选降压物质检查项，但若降压药理作用与该药具有的~~适应症功能主治~~有关，或对猫的反应干扰血压检测，可选择组胺类物质检查项替代。

2. 肌肉注射用注射剂

~~所用原料系动物来源或微生物发酵液提取物时，组分结构不清晰或有可能污染毒性杂质且又缺乏有效的理化分析方法的肌肉注射用注射剂，应考虑设立异常毒性检查项。肌肉注射用注射剂异常毒性检查项是否设立可参考静脉用注射剂的要求。~~

所用原料系动物来源或微生物发酵液提取物时，组分结构不清晰或有可能污染异源蛋白或未知过敏反应物质的肌肉注射用注射剂，如缺乏相关理化分析方法且临床发现过敏反应，应考虑设立过敏反应检查项。

临床用药剂量较大，生产工艺易污染细菌内毒素的肌肉注射用注射剂，应考虑设细菌内

毒素检查项。

3. 特殊途径的注射剂

椎管内、腹腔、眼内、皮下等特殊途径的注射剂，其安全性检查项目一般应符合静脉用注射剂的要求，必要时应增加其他安全性检查项目，如刺激性检查、细胞毒性检查。

4. 注射剂用辅料

~~注射剂用辅料使用面广，用量大，来源复杂，与兽药的安全性直接相关。在其质量控制中，应根据辅料的来源、性质、用途、用法用量，配合理化分析方法，设立必要的安全性检查项目。~~

4. 其他

~~原料和生产工艺特殊的注射剂~~根据注射剂生产工艺特点，必要时可增加特殊的安全性检查项目，如~~外源因子检测~~~~病毒检查~~、细胞毒性检查等。

注射剂生产用原料、辅料和直接接触兽药的包装材料和容器(简称药包材)应根据来源、性质、用途、用法用量，并考虑对制剂质量的影响，基于风险管理的理念，结合兽药的生产工艺，采用具体问题具体分析的原则，配合理化分析方法，设立必要的安全性检查项目。

二、安全性检查方法和检查限值确定

检查方法和检查限值可按以下各项目内容要求进行研究。研究确定限值后，至少应进行3批以上供试品的~~检查~~验证。

1. 异常毒性检查

本法系将一定量的供试品溶液注入小鼠体内，规定时间内观察小鼠出现的死亡情况，以判定供试品是否符合规定。供试品的不合格表明兽药中混有超过兽药本身毒性的毒性杂质，临床用药将可能增加急性不良反应的~~风险~~。

检查方法 参照异常毒性检查法（通则1141）。

设定限值前研究 参考文献数据并经单次静脉注射给药确定该注射剂的急性毒性数据（LD₅₀或LD₁及其可信限）。有条件时，由多个实验室或多种来源动物试验求得LD₅₀和LD₁数据。注射速度0.1ml/s，观察时间为72小时。如使用其他动物、改变给药途径和次数、或延长观察时间和指标，应进行相应动物、给药方法、观察指标、观察时间的急性毒性试验。~~对动物异常反应的判断，应排除药物本身对动物的毒性反应的影响，必要时可设置对照组。~~

设定限值 异常毒性检查的限值应低于该注射剂本身毒性的最低致死剂量，考虑到实验室间差异、动物反应差异和制剂的差异，建议限值至少应小于LD₁可信限下限的1/3(建议采用1/3~1/6)。如最低致死量难以计算，可采用小于LD₅₀可信限下限的1/4(建议采用1/4~1/8)。如半数致死量与临床体重剂量之比小于20可采用LD₅₀可信限下限的1/4或LD₁可信限下限的1/3。

如对动物、给药途径和给药次数、观察指标和时间等方法和限值有特殊要求时应在品种项下另作规定。

2. 细菌内毒素或热原检查

本法系利用鲎试剂(或家兔)测定供试品所含的细菌内毒素(或热原)的限量是否符合规定。不合格供试品在临床应用时可能产生热原反应而造成严重的不良后果。

检查方法 参照细菌内毒素检查法（通则1143）、热原检查法（通则1142）。~~不合~~

~~格供试品在临床应用时可能产生热原反应而造成严重的不良后果。~~

设定限值前研究 细菌内毒素检查应进行干扰试验，求得最大无干扰浓度；热原检查应做适用性研究，求得对家兔无毒性反应、不影响正常体温和无解热作用剂量。实验用家兔应定期采用抽样的方式进行反应灵敏度测试，一般按热原检查法要求，注射一定剂量的内毒素标准品，其中10EU/kg剂量引起的升温反应，应判定为不符合规定。

设定限值 细菌内毒素和热原检查的限值根据临床1小时内最大用药剂量计算，细菌内毒素检查限值按规定要求计算，由于药物和适应证(如抗感染、抗肿瘤、心血管药等急重病症用药、复合用药、大输液等)的不同，限值可适当严格，至计算值的1/3~1/2，以保证安全用药。热原检查限值可参照临床剂量计算，一般为靶动物用每千克体重每~~小时~~最大供试品剂量的2~5倍，供试品注射体积每千克体重一般不少于0.5ml，不超过10ml。

细菌内毒素测定浓度应无干扰反应，热原限值剂量应不影响家兔正常体温。如有干扰或影响，可在品种项下增加稀释浓度、调节pH值和渗透压或缓慢注射等排除干扰或影响的特殊规定。

3. 降压物质检查

本法系通过静脉注射限值剂量供试品，观察对麻醉猫的血压反应，以判定供试品中所含降压物质的限值是否符合规定。供试品的不合格表明兽药中含有~~超过限值以上~~的影响血压反应的物质，兽医临床用药时可能引起急性降压不良反应。

检查方法 参照降压物质检查法（通则 1145）。

设定限值前研究 供试品按一定注射速度静脉注射不同剂量后(供试品溶液与组胺对照品溶液的注射体积一般应相同，通常为0.2~1ml/kg)，观察供试品对猫血压反应的剂量反应关系，求得供试品降压物质检查符合规定的最大剂量（最大无降压反应剂量）。

设定限值 ~~一般以兽医临床单次用药剂量的1/5~5倍作为降压反应物质检查剂量限值，急重病症用药尽可能采用高限。~~一般应不低于临床单次用药剂量。

特殊情况下，如供试品的药效试验有一定降血压作用，则可按猫最大无降压反应剂量的1/2~1/4作为限值剂量；供试品原液静脉注射1ml/kg剂量未见降压反应，该剂量可作为给药限值。

4. 组胺类物质检查

本法系将一定浓度的供试品和组胺对照品依次注入离体豚鼠回肠浴槽内，分别观察出现的收缩反应幅度并加以比较，以判定供试品是否符合规定的一种方法。供试品不合格表明含有组胺和类组胺物质，在兽医临床上可能引起血压下降和类过敏反应等严重的不良反应。

检查方法 参照组胺类物质检查法（通则1146）。

设定限值前研究 在确定限值前，应考察供试品对组胺对照品引起的离体豚鼠回肠收缩反应的干扰（抑制或增强），求得最大无收缩干扰浓度。建立组胺类物质检查时，须进行方法适用性研究。若供试品的处方、生产工艺等任何有可能影响试验结果的条件发生变更~~或~~时，需重新进行方法适用性研究~~干扰试验~~。

确定最小有效稀释浓度（MVC） 最小有效稀释浓度是指在试验中供试品被允许达到最小稀释的浓度。

$$MVC=CSL/L$$

式中 CSL 为低剂量组胺溶液的浓度 ($\mu\text{g/ml}$) ;

L 为供试品组胺限值 ($\mu\text{g/U}$) 。

方法适用性研究干扰试验 按组胺类物质检查法,依下列顺序准确注入供试品~~稀释液~~加对照品稀释液低剂量、对照品稀释液低剂量、供试品~~稀释液~~加对照品稀释液高剂量、对照品稀释液高剂量 (d_{s_1+T} 、 d_{s_1} 、 d_{s_2+T} 、 d_{s_2}) , 重复一次, 如 d_{s_1+T} 及 d_{s_2+T} 所致的~~收缩~~反应值分别与对应组胺对照溶液, 即 d_{s_1} 及 d_{s_2} 所致的反应值基本一致 (反应值差异在20%以内) , 则认为供试品不干扰组胺类物质检查; 否则认为对组胺类物质检查有干扰, 应将供试品溶液进行稀释, 且不超过规定MVC进行重试, 必要时应另取动物重试。如仍不能达到有效结果时, 则认为该品种不适合设立组胺类物质检查项, 建议设立降压物质检查项。~~同时应进行本法与降压物质检查法符合性的研究。~~

设定限值 除特殊要求外, 采用下列计算公式确定检查限值 (L) 。

$$L=K/M$$

式中 K 值为靶动物每千克体重可接受的组胺限量 ($0.1\mu\text{g/kg}$) ;

M 为靶动物每千克体重~~每小时的~~最大供试品剂量, 以 ml/kg 、 mg/kg 或 U/kg 表示。

当供试品的用法与用量为频繁间隔注射或连续输注时, M 应计算每小时给药的最大总剂量。当供试品用于一个动物品种的不同年龄阶段, 应使用不同年龄阶段中每千克体重的最大供试品剂量; 当供试品可用于多个动物品种时, 应使用多个动物品种中每千克体重的最大供试品剂量。

设定的限值一般应不低于临床单次最大用药剂量, 如遇特殊情况, 可根据生产和临床实际情况做必要调整, 但需说明理由。

~~原则上与降压物质检查限值一致, 以兽医临床单次用药剂量的1/5~5 倍量和每千克体重0.1 μg 组胺剂量计算注射剂含组胺类物质检查限值, 其计算公式为: 限值 $L=K/M$, 其中 K 值为每千克体重接受的组胺量($0.1\mu\text{g/kg}$), M 为降压物质检查限值(mg/kg 、 ml/kg 、 IU/kg)。供试品剂量应低于最大无收缩干扰剂量。~~

5. 过敏反应检查

本法系将一定量的供试品皮下或腹腔注射入豚鼠体内致敏, 间隔一定时间后静脉注射供试品进行激发, 观察豚鼠出现过敏反应的情况, 以此判定供试品是否符合规定。供试品不合格表明注射剂含有过敏反应物质, 兽医临床用药时可能使患病动物致敏或产生过敏反应, 引起严重不良反应。

检查方法 参照过敏反应检查法 (通则1147) 。

设定限值前研究 测定供试品对豚鼠腹腔(或皮下)和静脉给药的无毒性反应剂量。必要时, 可采用注射剂的半成品原辅料进行致敏和激发研究, 确定致敏方式和次数, 在首次给药后14、21、28天中选择最佳激发时间。

设定限值 致敏和激发剂量应小于该~~给药~~途径的急性毒性反应剂量, 适当参考临床剂量。一般激发剂量大于致敏剂量。常用腹腔或鼠蹊部皮下注射途径致敏, 每次每只0.5ml, 静脉注射1ml激发。必要时, 可在激发时设置空白对照动物同时给药, 以排除药物本身对过敏反应结果判断的影响。如致敏剂量较小, 可适当增加致敏次数, 方法和限值的特殊要求应在品种项下规定。

6. 溶血与凝聚检查

本法系将一定量供试品与2%兔红细胞混悬液混合，温育一定时间后，观察其对红细胞的溶血与凝聚反应以判定供试品是否符合规定。

检查方法 参照溶血与凝聚检查法（见二部通则1122）。

设定限值前研究 对注射剂原液和稀释液进行溶血与凝聚实验研究，指标除目测外可增加比色法和显微镜下观察的方法，同时观察溶血和凝聚，确定无溶血和凝聚的最大浓度。

设定限值 以无溶血和凝聚的最大浓度的1/2作为限值浓度，一般应不低于临床最大使用浓度，如注射液原液无溶血和凝聚反应则以原液浓度为限值。