

### 13.4 PHÉP THỬ CHẤT GÂY SỐT

Phép thử được xác định bằng cách đo sự tăng thân nhiệt thỏ sau khi tiêm tĩnh mạch dung dịch vô khuẩn của chất cần kiểm tra.

#### Lựa chọn động vật thí nghiệm

Dùng thỏ trưởng thành, khỏe mạnh, cả 2 giống, cân nặng không dưới 1,5 kg, nuôi dưỡng bằng thức ăn không có chứa kháng sinh và thỏ không có dấu hiệu giảm cân trong quá trình thử nghiệm. Không dùng để thử nghiệm nếu:

- a) Thỏ mới được dùng thử chất gây sốt có kết quả âm tính trong vòng 3 ngày trước đó, hoặc
- b) Thỏ đã được dùng thử chất gây sốt có kết quả dương tính trong vòng 3 tuần.

#### Khu vực lưu giữ động vật

Thỏ được nuôi giữ riêng từng con trong khu vực yên tĩnh, có nhiệt độ ổn định. Cho thỏ nhịn ăn từ đêm trước khi thử cho đến khi thử xong, không cho uống nước trong quá trình thử. Tiến hành phép thử trong phòng yên tĩnh, không có tiếng ồn, nhiệt độ phòng chênh lệch không quá 3 °C so với khu vực nuôi giữ, hoặc thỏ phải được lưu giữ ở điều kiện phòng thí nghiệm trong khoảng ít nhất 18 h trước khi thử nghiệm.

#### Dụng cụ, bơm và kim tiêm

Tất cả các dụng cụ, bơm và kim tiêm phải được rửa sạch và tráng nước cất, sấy ở nhiệt độ 250 °C trong 30 min hoặc 200 °C trong 1 h.

#### Hộp, giá giữ thỏ

Các hộp, giá giữ thỏ cho trường hợp đo nhiệt độ bằng thiết bị điện được thiết kế để giữ ở cổ con vật nhưng không được chật quá, phần cơ thể còn lại được thoải mái để thỏ có thể ngồi ở tư thế bình thường. Không giữ thỏ bằng các loại kẹp hoặc giá có thể gây đau hoặc khó chịu cho con vật. Thỏ phải được cho vào hộp hoặc giá ít nhất 1 h trước khi thử và giữ ở đó trong suốt quá trình thử nghiệm.

#### Nhiệt kế

Nhiệt kế hoặc thiết bị điện dùng để ghi nhiệt độ có độ chính xác 0,1 °C và được đưa vào trực tràng của thỏ với độ sâu 5 cm. Độ sâu của nhiệt kế trong trực tràng phải giống nhau giữa các thỏ. Nếu dùng thiết bị điện, đầu đo nhiệt độ phải được đặt trong trực tràng trong suốt quá trình thử.

#### Thử nghiệm sơ bộ

Chỉ nên tiến hành thử sơ bộ với những thỏ lần đầu tiên được dùng để thử chất gây sốt.

Trong vòng 1 đến 3 ngày trước khi kiểm tra mẫu thử, tiêm tĩnh mạch tại 10 ml/kg thỏ dung dịch natri clorid 0,9 % không có chất gây sốt, đã làm ấm đến khoảng 38,5 °C trước khi tiêm. Ghi nhiệt độ thỏ, bắt đầu ít nhất 90 min trước khi tiêm và tiếp tục trong 3 h sau khi tiêm. Không dùng những thỏ có nhiệt độ thay đổi quá 0,6 °C vào thử nghiệm chính thức.

#### Thử nghiệm chính thức

Mỗi mẫu được thử trên một nhóm 3 thỏ.

*Chuẩn bị và tiêm mẫu thử:* Mẫu thử có thể được hòa tan trong một dung môi không có chất gây sốt, dung dịch natri clorid 0,9 % hoặc một chất lỏng được quy định trong chuyên luận riêng. Làm ấm dung dịch thử lên khoảng 38,5 °C trước khi tiêm. Tiêm chậm dung dịch thử vào tĩnh mạch tai thỏ trong khoảng thời gian không quá 4 min, trừ khi có chỉ dẫn gì khác trong chuyên luận riêng. Lượng mẫu thử được tiêm sẽ thay đổi tùy theo chế phẩm cần kiểm tra và được quy định trong chuyên luận riêng. Thể tích tiêm trong khoảng 0,5 ml/kg cân nặng đến 10 ml/kg cân nặng thỏ.

#### *Theo dõi nhiệt độ và xác định đáp ứng:*

Ghi nhiệt độ thỏ 30 min một lần, ít nhất 90 min trước khi tiêm và tiếp tục 3 h sau khi tiêm. Theo dõi nhiệt độ trước khi tiêm, không dùng vào thử nghiệm nếu:

Thỏ có chênh lệch nhiệt độ > 0,2 °C giữa 2 lần ghi liên tiếp, hoặc

Thỏ có nhiệt độ ban đầu cao hơn 39,8 °C hoặc thấp hơn 38 °C, hoặc

Nhiệt độ ban đầu của 3 thỏ trong cùng nhóm khác nhau quá 1 °C.

“Nhiệt độ ban đầu” của mỗi thỏ là trung bình của 2 giá trị nhiệt độ ghi được cách nhau 30 min, xác định trong khoảng 40 min ngay trước khi tiêm dung dịch thử. “Nhiệt độ tối đa” của mỗi thỏ là nhiệt độ cao nhất ghi được cho thỏ đó trong vòng 3 h sau khi tiêm. Chênh lệch giữa “nhiệt độ ban đầu” và “nhiệt độ tối đa” được gọi là đáp ứng. Khi chênh lệch là âm, kết quả được coi là đáp ứng bằng 0.

#### *Đánh giá kết quả:*

Đầu tiên thử trên một nhóm 3 thỏ, tùy thuộc vào kết quả thu được, thử thêm lần lượt từng nhóm 3 thỏ khác cho đến khi tổng cộng 4 nhóm, nếu cần. Nếu tổng đáp ứng của nhóm đầu tiên không vượt quá số ghi trong cột 2 của Bảng 13.4, thì mẫu thử đạt yêu cầu. Nếu tổng đáp ứng vượt quá số ghi trong cột 2 nhưng không vượt quá số ghi trong cột 3 thì lặp lại phép thử trên nhóm khác như đã nêu ở trên. Nếu tổng các đáp ứng lớn hơn số ghi trong cột 3 thì mẫu thử không đạt yêu cầu.

Bảng 13.4

Số thỏ	Mẫu thử đạt nếu tổng đáp ứng không vượt quá	Mẫu thử không đạt nếu tổng đáp ứng vượt quá
(1)	(2)	(3)
3	1,15 °C	2,65 °C
6	2,80 °C	4,30 °C
9	4,45 °C	5,95 °C
12	6,60 °C	6,60 °C

Những thỏ có nhiệt độ tăng cao quá 1,2 °C thì loại và không bao giờ dùng lại cho phép thử chất gây sốt.

### 13.5 THỬ ĐỘC TÍNH BẤT THƯỜNG

Độc tính bất thường của thuốc được xác định bằng cách theo dõi số chuột chết trong thời gian 48 h sau khi cho chuột một liều thuốc qua đường dùng theo quy định.