

ICS 点击此处添加 ICS 号

CCS 点击此处添加 CCS 号

T/CEMA

中国民族医药协会团体标准

T/CEMA XXX—2024

医用海南金边蚂蟥（菲牛蛭） 活体检测标准

Medical Hainan Poecilobdella Manillensis Live Inspection Standard

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

发 布

目 次

前言 II

引言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 技术要求 2

5 检验规则 4

6 标志、标签、包装、运输 5

7 存储 5

8 处置 5

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由海南医科大学（海南省医学科学院）提出。

本文件归口单位：中国民族医药协会。

本文件起草单位：海南医科大学（海南省医学科学院），白沙黎族自治县人民医院（白沙黎族自治县医疗集团总医院）、海南蛭久生物科技有限公司、浙江中医药大学基础医学院、云南世纪华宝医药产业开发有限公司

本文件主要起草人：宫爱民、徐佳悦、丁治国、李梦、郑立运、段苏卿、刘颖、王凯、李泽友、张小坡、孙浠哲、马志健、王开琼、林璐、罗海生、何世龙、伍炳成、曾壮俊、卢少泉、陈星余、唐林、杨永光、李兴军、赵文卿、凌海清、王娇霞、臧玲玲、张晶、肖晓光、张志武、陈晓东、杨玉升、杨国华、王玉君、王尔栋、叶倩云、武京好、强龙

本文件为首次发布。

引 言

医用海南金边蚂蟥（菲牛蛭）检验标准，简称医用菲牛蛭检验标准，以提高医疗外用活体菲牛蛭品质为宗旨，目的是提升中医（黎医）技术的国内国际竞争力，结合最新的研究数据成果，进一步制定检验标准，提高医疗、理疗用海南金边蚂蟥（菲牛蛭）的整体品质和生产性能。由于海南金边蚂蟥（菲牛蛭）野生资源驯化养殖技术已经成熟，人工规范化、产业化、标准化养殖可以满足活体外治法应用的供给需求，但医用活体海南金边蚂蟥（菲牛蛭）由于缺少高质量的检验标准导致其临床应用受限，因此规范医用海南金边蚂蟥（菲牛蛭）的检验标准显得尤为重要。

制定一套科学、规范、统一的黎医特色海南金边蚂蟥（菲牛蛭）检验标准，对于推动菲牛蛭产业的发展，提高其临床应用效果，具有重要意义。这不仅有助于提升医用菲牛蛭的质量和安全性，还能为菲牛蛭的深入研究提供有力支持，进一步推动其在医学领域的广泛应用。

本文件旨在规范医用海南金边蚂蟥（菲牛蛭）检验标准，为人民群众提供高品质、有效的中药材，对弘扬和传承推广传统特色黎医疗法，促进海南黎医药的发展具有重要意义。

医用海南金边蚂蟥（菲牛蛭）检验标准

1 范围

本标准规定了医用海南金边蚂蟥（菲牛蛭）的术语和定义、技术要求、检验规则、标志、标签、包装、运输、存储和处置。

本标准适用于医用活体海南金边蚂蟥（菲牛蛭）的检验。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

中华人民共和国药典 2020年版 四部 通则1106

中药材生产质量管理规范 2022年版

GB/T 191 包装储运图示标志

GB 5009.11 食品安全国家标准食品中总砷及无机砷的测定

GB 5009.12 食品安全国家标准食品中铅的测定

GB 5009.15 食品安全国家标准食品中镉的测定

GB 5009.17 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定

GB 10136 进出口食品中寄生虫的检验方法

GB/T 16886（所有部分） 医疗器械生物学评价

GB/T 18448.1 实验动物：体外寄生虫检测方法

GB 4789.5-2012 食品安全国家标准食品微生物学检验志贺氏菌检验

GB 4789.36-2016 食品安全国家标准食品微生物学检验大肠埃希氏菌0157:H7/NM 检验

GB 4789.11-2014 食品安全国家标准食品微生物学检验β型溶血性链球菌检验

GB 4789.7-2013 食品安全国家标准食品微生物学检验副溶血性弧菌检验

GB 4789.30-2016 食品安全国家标准食品微生物学检验单核细胞增生李斯特氏菌检验

JJF 1070-2023 定量包装商品净含量计量检验规则

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1 海南金边蚂蟥 *Hainan Poecilobdella Manillensis*

海南常见的吸血蚂蟥，在《中国动物志》·蛭纲·医蛭科中收载，标本采集地为海南陵水，是海南岛水田的优势种。本种海南陵水县黎语叫“妈金”，保亭县黎语叫“客阴(king)”。海南金边蚂蟥个体狭长且扁平，个体较大，体长4~11.3cm或更长，体宽0.3~1.2cm，最大体宽（中部）可达0.35~2cm；活体背面黄褐色或橄榄绿色，体正侧面各有一条橙黄色或红棕色的纵带；腹面淡灰色或灰绿色，较光滑；两端各具一吸盘，前吸盘与口腔一体不显著，尾吸盘较大，但明显小于体宽。

3.2 医用级菲牛蛭 *Medical Hainan Poecilobdella Manillensis*

严格按照相关要求（如符合国家中药材生产质量管理规范（GAP）或医用菲牛蛭养殖标准要求）环境下养殖，经过系列净化，有生产/养殖单位质检部门按本标准（或生产/养殖单位检测参数高于本标准的内控标准）进行抽样检验合格或有资质的第三方检验机构检验合格的活体海南金边蚂蟥（菲牛蛭）。

4 技术要求

4.1 原材料要求

- 4.1.1 选育品种为吸血类菲牛蛭：海南金边蚂蟥（菲牛蛭）。并抽查选育菲牛蛭不含致病菌或不明传染物质。
- 4.1.2 选用在符合国家中药材生产质量管理规范（GAP）或医用菲牛蛭养殖标准要求环境下养殖，性已成熟或年龄在1年以上的活体金边蚂蟥作为种蚂蟥（亲蛭），以其繁育出来的第二代菲牛蛭个体。
- 4.1.3 第二代菲牛蛭经过3~6个月的室内无土无菌培养后，随后进行饥饿净化养殖处理大于90天。
- 4.1.4 饥饿净化养殖后转移至无菌实验室进行除菌养殖处理大于7天。
- 4.1.5 按本文件（或生产/养殖单位检测参数高于本标准的内控标准）进行抽样检验合格的成品个体。

4.2 外观性状指标

操作：取菲牛蛭活体置培养皿中，在日光灯下观察体表，外观性状指标应符合表1的规定。

表 1 外观性状指标

项目	指标	检验方法
色泽	色泽应均匀，呈暗黄/暗绿/暗黄绿色，无杂色斑。	目测、鼻嗅等方法进行检测。
气味	气微腥。	
性状	本品应个体狭长且扁平，有少许环节突起，较光滑。前段略尖，后端钝圆，背面黄褐色或橄榄绿色。背中有一条连续或断裂的蓝灰色纵纹，体正侧面各有一条橙黄色或红棕色的纵带。腹面淡灰色或灰绿色，无斑点及纵纹。两端各具1吸盘。前吸盘不显著，后吸盘虽较大，但明显小于体宽。	
杂质	无可见外来杂质。	

4.3 活跃度、吸吮力指标

表 2 活跃度、吸吮力指标

等级	运动特点	水中运动速度（波浪式游动）（cm/s）	离开水面速度（尺蠖式和攀援式移动）（cm/s）	吸血时间（min）	吸血量（体重倍数）	检测方法
A 级	快速运动	≥6	≥3	≥50	≥6	观察运动状态并记录，计算速度、吸血量。
B 级	较快运动	3~5	1~2	21~49	3~5	

4.4 净含量（体重）指标

应按照JJF1070-2023定量包装商品净含量计量检验规则规定执行。 一次性活体医用菲牛蛭成品每条重量在2.0g~7.0g范围内，以3.0g~5.0g重量为佳。

4.5 微生物（细菌、病毒）指标

微生物指标应符合表3的规定。

表 3 微生物指标

检测项目	检测部位	检测结果	检测方法
沙门氏菌	体表、体内	未检出	《中华人民共和国药典》2020 年版(四部)通则 1106
金黄色葡萄球菌	体表、体内	未检出	《中华人民共和国药典》2020 年版(四部)通则 1106
志贺氏菌	体表、体内	未检出	GB 4789.5-2012
大肠埃希氏菌 0157:H7/NM	体表、体内	未检出	GB 4789.36-2016(第一法)
溶血性链球菌	体表、体内	未检出	GB 4789.11-2014
副溶血性弧菌	体表、体内	未检出	GB 4789.7-2013(定性检测)
单核细胞增生李斯特氏菌	体表、体内	未检出	GB 4789.30-2016(第一法定性检测)
铜绿假单胞菌	体表、体内	未检出	《中华人民共和国药典》2020 年版(四部)通则 1106
乙型肝炎病毒 丙型肝炎病毒 梅毒螺旋体 人免疫缺陷病毒	体表、体内	不得检出	参照《全国临床检验操作规程》第 4 版

4.6 重金属污染限量指标

重金属污染限量指标应符合表4的规定

表 4 重金属污染物限量指标 单位：mg/Kg

项目	指标	检测方法
----	----	------

铅≤	0.5	GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中铅的测定
砷≤	0.5	GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中总砷及无机砷的测定
镉≤	0.1	GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中镉的测定
汞≤	0.1	GB 5009.12 食品安全国家标准 食品中总汞及有机汞的测定

4.7 水蛭素含量测定

4.7.1操作：每一批次随机抽取活体菲牛蛭 8~12 条（约 30~80 克），制成浆液，取浆液 0.25g，精密称定，精密加入 0.9%氯化钠溶液 5ml，充分搅拌，浸提 30 分钟，并时时振摇，离心并收集上清液，精密量取上清液 100 μL，置试管（8mm×38mm）中，加入含 0.5%（牛）纤维蛋白原（以凝固物计）的三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液 [注 1]（临用配制）200 μL，摇匀，置水浴中（37℃±0.5℃）温浸 5 分钟，滴加每 1mL 中含 40 单位的凝血酶溶液 [注 2]（每 1 分钟滴加 1 次，每次 5 μL，边滴加边轻轻摇匀）至凝固，记录消耗凝血酶溶液的体积。

4.7.2 计算方式：

按以下公式计算：

$$U=\frac{C_1V_1}{C_2V_2}$$

式中 U 为每 1g 含凝血酶活性单位，U/g；

C1 为凝血酶溶液的浓度， μ /mL；

C2 为供试品溶液的浓度， g/mL；

V1 为消耗凝血酶溶液的体积， μ L；

V2 为供试品溶液的加入量， μ L。

中和一个单位的凝血酶的量，为一个抗凝血酶活性单位。

注：[1]三羟甲基氨基甲烷盐酸缓冲液的配制，取 0.2mol/L 三羟甲基氨基甲烷溶液 25mL 与 0.1mol/L 盐酸溶液 40mL，加水至 100mL，调节 pH 值至 7.4。

[2]凝血酶溶液的配制，取凝血酶试剂适量，加生理盐水配制成每1mL含凝血酶40个单位的溶液（临用配制）。

4.7.3 含量标准：本品每 1g 含抗凝血酶活性应不低于 80.0U。

4.8 安全性

应符合GB/T 16886 医疗器械生物学评价的规定。

5 检验规则

5.1 出厂检验

5.1.1 每批产品须经生产/养殖单位质检部门按本标准（或生产/养殖单位检测参数高于本标准的内控标准）进行抽样检验，经检验合格，签发检验合格证后方可用于医疗单位治疗使用。

5.1.2 感官指标、微生物指标、污染物指标、净含量、水蛭素含量为每批产品必检项目。

5.1.3 型式检验

有下列情况之一时，需对技术要求的全部指标进行检验：

a) 正常生产时，每年一次；

- b) 停产六个月以上再生产时；
- c) 产品质量不稳定时
- d) 当生产/养殖工艺改变时；
- e) 国家相关管理监督部门提出检验要求时。

5.2 判定规则

微生物指标、污染物指标、水蛭素含量3项指标中有1项以上（包括1项）不符合本标准时，应从同批产品中双倍量抽样复检不符合指标。如复检指标仍不符合本标准规定的，整批产品判定为不合格。

6 标志、标签、包装、运输

6.1 标志、标签

产品外包装图示标志应符合GB/T 191的规定，产品标签应符合相关规定。

6.2 包装、运输

6.2.1 选择灭菌消毒的玻璃器皿、塑料器皿或网袋等装载容器，采用干净卫生、无菌并具有质量轻、吸水、保湿性能好的材料，如保湿凝胶、海绵等进行保湿。

6.2.2 装运前先将菲牛蛭进行缓慢降温至接近休眠状态（约 16~18℃），降温梯度每小时 2℃~5℃，保湿材料和装载容器在装运前应先加湿冷却至相同的温度。对泡沫箱进行预冷却，冷却方式有冰预冷和冰舱内预冷。

6.2.3 包装时先在装载容器底部铺上经加湿及冷却的保湿材料，厚度为 2cm~3cm，然后放入菲牛蛭，盖紧瓶盖或扎紧袋口，放进泡沫箱中立即加盖封箱，且盖口要加免水胶带密封 2 圈。

6.2.4 采用冷链保温运输，调控温度至菲牛蛭接近休眠状态，若无控温设备，温度高时可在泡沫箱装放入冰袋降温，加冰量以气温条件而定。

6.2.5 运输容器、设备应专用，不得与有毒有害物质混装运输。

6.2.6 运输时间一般控制在≤72h 内。

6.2.7 运输完成后及时取出，放置 6 个小时后，再次消毒包装器皿和用无菌生理盐水清洗一次性医用菲牛蛭。

7 存储

7.1 不得与有毒、有害物品混放，使用容器具需进行消毒，容器具备良好的透气性和保湿性，在 20℃~27℃条件下避光存储。

7.2 每日使用可食用纯净水换洗一次性医用菲牛蛭，在换洗过程中使用器皿应先消毒，操作人员应佩戴一次性医用手套进行操作。

7.3 定期对用水进行化学和生物污染物进行测试。

7.4 如菲牛蛭出现个体异常，应及时做医学废物处理。

8 处置

8.1 在任何可能暴露人体体液的场合，处置时操作人员应一直佩戴手套、口罩，穿工作服，戴工作帽。

8.2 用于病人治疗后的菲牛蛭浸渍于 70%（或更高浓度）的酒精溶液至少 5min 后处死，不应重复使用。