



中华人民共和国国家标准

GB/T 16886.11—2011/ISO 10993-11:2006
代替 GB/T 16886.11—1997

医疗器械生物学评价 第 11 部分：全身毒性试验

Biological evaluation of medical devices—Part 11: Tests for systemic toxicity

(ISO 10993-11:2006, IDT)

2011-12-30 发布

2012-05-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布

目 次

前言	III
引言	V
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 基本考虑	2
5 急性全身毒性	6
6 重复接触全身毒性(亚急性、亚慢性和慢性全身毒性).....	9
附录 A (资料性附录) 接触途径	13
附录 B (资料性附录) 剂量体积	15
附录 C (资料性附录) 常见临床症状与观察项目	16
附录 D (资料性附录) 建议的血液学、临床生化和尿液测定法	17
附录 E (资料性附录) 建议进行组织病理学评价的器官	19
附录 F (资料性附录) 材料介导热原信息	21
参考文献	22

前 言

GB/T 16886《医疗器械生物学评价》，由下列部分组成：

- 第 1 部分：风险管理过程中的评价与试验；
- 第 2 部分：动物福利要求；
- 第 3 部分：遗传毒性、致癌性和生殖毒性试验；
- 第 4 部分：与血液相互作用试验选择；
- 第 5 部分：体外细胞毒性试验；
- 第 6 部分：植入后局部反应试验；
- 第 7 部分：环氧乙烷灭菌残留量；
- 第 9 部分：潜在降解产物定性与定量构架；
- 第 10 部分：刺激与迟发型超敏反应试验；
- 第 11 部分：全身毒性试验；
- 第 12 部分：样品制备与参照样品；
- 第 13 部分：聚合物降解产物定性与定量；
- 第 14 部分：陶瓷降解产物定性与定量；
- 第 15 部分：金属与合金降解产物定性与定量；
- 第 16 部分：降解产物与可溶出物毒代动力学研究设计；
- 第 17 部分：可溶出物允许限量确立方法；
- 第 18 部分：材料化学表征；
- 第 19 部分：材料物理化学、形态学和表面特性表征；
- 第 20 部分：医疗器械免疫毒理学试验原则和方法。

本部分为 GB/T 16886 的第 11 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分代替 GB/T 16886.11—1997《医疗器械生物学评价 第 11 部分：全身毒性试验》，与 GB/T 16886.11—1997 相比，主要技术变化如下：

- 修改并补充完善了术语和定义；
- 取消了试验样品的要求和建议；
- 取消了医疗器械浸提方法；
- 增加了全身毒性试验的基本考虑；
- 全面修改了急性全身毒性试验和重复接触全身毒性(亚急性、亚慢性和慢性全身毒性)试验，给出了总则、试验设计、评价指标和最终报告的要求；
- 增加了附录 A、附录 B、附录 C、附录 D、附录 E 和附录 F 等资料性附录，给出了全身毒性试验接触途径、剂量体积、常见临床症状和观察项目、血液学、临床生化和尿液测定法、组织病理学评价的器官、材料介导热原等信息。

本部分使用翻译法等同采用 ISO 10993-11:2006《医疗器械生物学评价 第 11 部分：全身毒性试验》。与本部分中规范性引用的国际文件有一致性对应关系的我国文件如下：

- GB/T 16886.1—2011 医疗器械生物学评价 第 1 部分：评价与试验(ISO 10993-1:2009, IDT)
- GB/T 16886.2—2011 医疗器械生物学评价 第 2 部分：动物福利要求(ISO 10993-2:2006, IDT)
- GB/T 16886.12—2005 医疗器械生物学评价 第 12 部分：样品制备与参照样品(ISO 10993-12:

2002, IDT)

本部分由国家食品药品监督管理局提出。

本部分由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会(SAC/TC 248)归口。

本部分起草单位:国家食品药品监督管理局济南医疗器械质量监督检验中心。

本部分主要起草人:由少华、黄经春、孙立魁、王昕、王科镛、刘成虎。

本部分于1997年3月首次发布。

引 言

全身毒性是医疗器械使用中的一种潜在的不良作用,可由于器械或材料可沥滤物的吸收、分布和代谢到达不与之直接接触的人体部位而产生一般毒性作用以及器官和器官全身作用。GB/T 16886 的本部分涉及一般全身毒性评价,不包括特异性靶器官或器官全身毒性,虽然毒性物质的全身性吸收和分布作用可导致这些作用。

由于医疗器械及其材料和应用范围种类繁多,本部分未进行详细说明。在设计全身毒性试验时要考虑到具体的方法学,适当的研究设计必须与器械材料的特性及其预期临床应用相适应。

本部分还包括遵守良好实验室质量管理规范和试验报告等方面内容。

某些全身毒性试验(如长期植入或皮肤毒性研究)可设计用于研究全身作用,以及局部毒性作用、致癌性或生殖毒性作用,本部分仅侧重于说明此类研究的全身作用方面。GB/T 16886. 3、GB/T 16886. 6、GB/T 16886. 10 和 GB/T 16886. 20 给出了其他毒理学终点的试验。

致热性(见附录 F)是一种其他类型的全身作用,一直以来包括在本部分中,但正考虑将其放在另外独立的标准中规定。

总之,毒理学是一门发展中的科学,任何单项试验结果都不宜作为推断某种器械预期应用是否安全的唯一依据。

医疗器械生物学评价

第 11 部分:全身毒性试验

1 范围

GB/T 16886 的本部分规定了评价医疗器械材料导致潜在不良全身反应时的要求,并给出了试验步骤指南。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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。

ISO 10993-1 医疗器械生物学评价 第 1 部分:风险管理过程中的评价与试验(Biological evaluation of medical devices—Part 1:Evaluation and testing within a risk management process)

ISO 10993-2 医疗器械生物学评价 第 2 部分:动物福利要求(Biological evaluation of medical devices—Part 2:Animal welfare requirements)

ISO 10993-12 医疗器械生物学评价 第 12 部分:样品制备与参照样品种(Biological evaluation of medical devices—Part 12:Sample preparation and reference materials)

3 术语和定义

ISO 10993-1 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

剂量 dose/dosage

每单位体重或表面积给予的试验样品的量(如质量、体积)。

3.2

剂量效应 dose-effect

个体或群体研究对象中,剂量与特定生物学反应程度之间的关系。

3.3

剂量反应 dose-response

剂量与接触相关作用范围之间的关系。

注:剂量反应关系有两种类型,第一种是个体对剂量范围的反应,第二种是群体研究对象剂量范围反应的分布。

3.4

可沥滤物 leachable substance

水或其他与器械使用相关的液体作用于器械或材料后迁移出的化学物。

注:可沥滤物包括添加剂、灭菌残留物、加工残留物、降解产物、溶剂、增塑剂、润滑剂、催化剂、稳定剂、抗氧化剂、染色剂、填料及单体。

3.5

限度试验 limit test

采用一种适宜的试验样品剂量进行的单剂量组试验,以判定是否存在毒性危害。

3.6

全身毒性 systemic toxicity

非限定于机体与器械接触部位不良作用的毒性。

注：全身毒性是指毒性物质在进入机体至远端部位的吸收与分布中产生的有害作用。

3.7

急性全身毒性 acute systemic toxicity

在 24 h 内一次、多次或持续接触试验样品后在任何时间发生的不良作用。

3.8

亚急性全身毒性 subacute systemic toxicity

在 24 h~28 d 内多次或持续接触试验样品后发生的不良作用。

注：由于该术语在语义上不确切，在该限定时间周期内发生的不良作用也可称为短期重复性接触全身毒性研究。

国际规范性导则大多选择 14 d~28 d 的时间周期，并考虑合理的方法。亚急性静脉研究一般规定接触时间 >24 h, 但 <14 d。

3.9

亚慢性全身毒性 subchronic systemic toxicity

反复或持续接触试验样品后在动物寿命期的某一阶段发生的不良作用。

注：啮齿动物亚慢性毒性研究一般为 90 d, 其他种属动物在不超过其寿命期的 10% 的阶段内。亚慢性静脉研究一般规定接触时间为 14 d~28 d。

3.10

慢性全身毒性 chronic systemic toxicity

在动物的主要寿命期内反复或持续接触试验样品后发生的不良作用。

注：慢性毒性研究一般 6~12 个月。

3.11

试验样品 test sample

用于生物学、化学试验或评价的材料、器械、器械的一部分、组件、浸提液或与之相关的部件。

4 基本考虑

4.1 总则

应按照 ISO 10993-1 中给出的接触方式和接触周期来考虑选择器械的适宜试验。

应在最终产品、最终产品和(或)材料的有代表性的组成样品上进行试验。试验样品应体现器械的正常制造和加工状态,若必需偏离,应记录在试验报告中并说明理由。出于识别危害的目的,可能需要对试验样品加大接触。

在设计试验时要考虑的一些因素包括试验样品的物理和化学性能,如 pH、稳定性、黏度、渗透压、缓冲力、溶解度和无菌性。

当考虑动物试验时,宜分析并采用所有合理并实用的替代、减少及优化的替代方法,以满足 ISO 10993-2 的规定。对于体内急性毒性试验,体外细胞毒性数据可用于估计起始剂量^[9]。

4.2 动物种属选择

对于选择医疗器械全身毒性试验具体动物种属没有绝对的要求,但是,试验所用动物种属应经过科学论证并符合 ISO 10993-2 的规定。对于医疗器械急性经口、静脉、皮肤和吸入研究,首选小鼠或大鼠,皮肤和植入研究选择家兔。可能还要考虑将非啮齿类动物用于试验,并对指导研究所用动物种属数量或选择的多种因素进行确认。

在进行不同时间周期的全身毒性系列研究时,如急性、亚急性、亚慢性、和(或)慢性全身毒性研究,首选采用同一种动物种属和动物品系,这样可控制动物种属和品系间的变异性,以利于对研究周期进行完全相关性评价。如使用多种动物种属或品系,对其选择理由应形成文件。

4.3 动物状况

一般情况下,宜使用已知来源并符合规定微生物健康状况的健康、初成年的饲养动物。在研究的开始阶段,同一性别的动物体重差异应不超过平均值的 $\pm 20\%$,如使用雌性动物,宜未育并无孕。对动物选择应进行论证。

4.4 动物饲养与管理

动物饲养与管理应符合有关动物管理规定。在处置之前以及规定的试验周期内,应使动物适应实验室条件。为了获得有效的试验结果,环境条件的控制以及适当的动物饲养技术是必要的。宜对已知产生或影响毒性的饲料成分和垫料进行适当鉴别,并应考虑对试验结果的潜在影响。

4.5 剂量组大小和数目

4.5.1 剂量组大小

全身毒性试验的精确度在很大程度上取决于每一剂量水平所采用的动物数量。必需的试验精确程度,或者说必需的每剂量组动物数量要根据研究的目的来确定。

剂量组宜根据试验周期而增加动物数量,这样在试验结束时每组能有足够的动物进行有效的生物学评价。但是,宜采用最少的动物来获取有效结果(见 ISO 10993-2)。表 1 给出了推荐的各接触途径的最少动物数量。

表 1 推荐的剂量组最少动物数量

试验类别	啮齿动物	非啮齿动物
急性 ^a	5 只	3 只
亚急性	10 只(每种性别各 5 只) ^a	6 只(每种性别各 3 只) ^a
亚慢性	20 只(每种性别各 10 只) ^a	8 只(每种性别各 4 只) ^a
慢性	40 只(每种性别各 20 只) ^{b,c}	^c

^a 可采用单一性别动物进行试验。如预期器械仅用于一种性别时,试验宜在该性别动物体上进行。
^b 单剂量组试验可参考该推荐数量,其他加大剂量组可减少至每种性别各 10 只。
^c 建议与统计学专家商讨慢性试验剂量组的动物数量,试验动物的数量宜根据能提供有效数据所需的最少动物数来确定,试验结束时必须有足够的动物以保证能对结果进行适当的统计学评价。

4.5.2 剂量组数目

采用一种适宜的试验样品剂量进行单剂量组试验可判定是否存在毒性危害(即限度试验),但其他多剂量或剂量反应试验要求采用多个剂量组来判定毒性反应。

如准备采用加大剂量,可增加剂量组。加大剂量宜考虑下列参数:

- 临床接触面积的倍数;
- 接触周期的倍数;
- 浸提组分或具体化学物的倍数;
- 24 h 内多次接触。

也可采用其他加大剂量方法,所用方法应进行论证。

4.5.3 对照品处置

根据试验目的,宜结合试验样品状态、接触途径、阴性对照、介质对照、和(或)假处理对照(sham-treated controls)来进行全身毒性试验。对照品应模拟试验样品制备和处置步骤。

4.6 接触途径

医疗器械或其可沥滤物可通过多种接触途径进入人体,试验接触途径应尽可能与器械的应用具有临床相关性,如应采用其他途径应进行论证。附录 A 中给出了接触途径举例。

4.7 样品制备

ISO 10993-12 给出了样品制备和稳定性导则。

4.8 剂量

4.8.1 试验样品给予

宜设计接触步骤,以避免与试验材料毒性无直接关系的生理变化或动物福利问题。如不可能一次接触日剂量体积或浓度,可采取不超过 24 h 分次小剂量给予的方式。

试验样品应在生理可接受温度下给与,一般常规采用室温或体温,如偏离应进行论证。

胃肠外接触途径宜是生理相容性溶液,必要时可对样品进行过滤除去微粒并形成文件。

反复接触全身毒性试验中,动物限制活动每天一般在 4 h~6 h。动物限制活动的程度和时间宜符合科学目的的最低要求,而不是仅考虑试验动物福利要求。如偏离应进行论证。

如必需限制动物活动,在接触试验样品之前宜使动物与固定器械相适应。

4.8.2 剂量体积

剂量体积导则见附录 B。当采用多剂量组时,可通过调整剂量浓度使试验体积差异降至最小,确保各剂量组剂量体积恒定。采用大于附录 B 给出的剂量体积时应进行论证。

宜避免经口途径给予大剂量体积,因为超出胃容量会快速进入小肠,也可能会逆流返回食管。

肌肉注射也有体积限制,要根据动物大小和肌肉部位来确定。附录 B 给出了各种属动物肌肉注射剂量。

快速静脉注射体积一般在约 1 min 左右的时间内注射完毕。注射速度是一个重要因素,推荐对啮齿动物大鼠注射速度应不超过 2 mL/min。

注射较大剂量体积时可缓慢或分次注射,也可静脉输液。动物如果出现明显的临床症状,则应不再按照预定的速率,应停止给液或减慢给液速率。

试验样品受溶解度或刺激方面的限制时可采用缓慢静脉注射速度。

如有临床方面的指征可采取连续输液方式,根据所给物质以及标准液体治疗规范来确定给液体积和速度,2 h 内一次给液量小于循环血量的 10%可作为一种参考。对于持续长时间输液来说,最低限度有效地限制动物活动也是要考虑的一个重要因素。

皮下给与试验样品参见附录 B,吸收速率和程度与试验样品的组成有关。

4.8.3 剂量频率

宜根据临床相关性确定剂量频率。加严过程应详细描述并进行论证。

在急性全身毒性试验中,动物宜在 24 h 内一次或分次给予试验样品。

在重复接触试验中,动物宜每日给与试验样品,试验期间每周 7 d 给与。也可采用其他给与方式,但应进行论证。

4.9 体重和饲料(水)消耗

体重变化和饲料及水消耗的改变有可能是试验样品的作用,因此在给与试验样品前的短时间内(如一次接触或急性试验一般在 24 h 内,重复接触试验在不超过 7 d 内)应测量每只动物的体重,并在整个试验期间以及试验结束时定期测量动物体重。如要根据动物体重确定给与剂量,则应采用最新测量的体重。

必要时长期重复接触试验应考虑测定饲料和水的消耗量。

4.10 临床观察

临床观察宜由受过培训的人员来进行,以保证报告的一致性。观察频率和间隔时间宜根据毒性反应的性质和严重程度、反应速度和恢复周期来确定,在试验的早期阶段尤其在急性试验中,可能需要增加观察次数。毒性迹象出现和消失的时间、持续时间和动物死亡时间都是很重要的,特别是出现延迟性不良临床症状或死亡的迹象。宜采取人道终点以避免使动物遭受不必要的痛苦。接触试验样品后基本临床观察应考虑预期作用的高峰期。

应系统记录观察到的现象,并保留每只动物的观察记录。

每天应至少一次采用实验室通用临床反应术语记录观察到的动物存活情况和明显的临床反应(见附录 C)。

长期重复接触试验每天应至少两次观察记录动物的发病率和死亡率,可考虑至少每周一次观察记录更大范围内的不良临床症状。

4.11 临床病理学

采用血液学和临床生化分析来研究组织、器官和其他系统的毒性反应。如有指征,应至少在预定的动物终点之前、或其中一个时期采集重复接触试验动物的血样来进行此类分析。有些情况下采血前可能需要动物禁食。如出于科学研究的需要,长期重复接触试验的最后一周可进行尿液检验,采用定时(如 16 h~24 h)尿量采集方法。

附录 D 列出了建议用于评价的血液学、临床生化和尿液分析参数。

4.12 解剖病理学

如有临床指征,急性全身毒性试验宜考虑大体病理学评价。

重复接触试验的全部动物应进行完整详细的大体尸检,包括体表、体表孔口、头部、胸(腹)腔及内脏等。适当时将要称重的器官去掉任何粘附的组织,并尽快称量其湿重以防止干燥。

附录 E 中给出了宜称量的组织,将其置于适当的固定液中保护以进行组织病理学检查。

表 2 给出了各类型试验至少应观察的项目。

表 2 观察项目

观察项目	急性	亚急性	亚慢性/慢性*
体重变化	+	+	+
临床观察	+	+	+
临床病理学	b	a,b	+
大体病理学	b	+	+

表 2 (续)

观察项目	急性	亚急性	亚慢性/慢性 ^a
器官称重	b	+	+
组织病理学	b	a,b	+
^a 慢性全身毒性试验一般是亚慢性试验在时间上的再延长,根据人体接触周期来确定,记录和报告的很多参数是相同的。慢性全身毒性试验可增加剂量组,包括卫星剂量组,可观察其中的一些项目或全部项目。 ^b 当有临床指征或非预期的较长期接触试验时,应考虑这些观察项目。附录 D 和附录 E 中给出了建议的血液和器官/组织分析项目。			

4.13 试验设计

本部分在后面的章节将列出试验设计,推荐由专家协商来进行试验设计。

4.14 试验质量

良好实验室质量管理规范涉及组织、过程和条件,在该规范条件下计划、实施、监控、记录并报告实验室试验。该规范可保证试验数据的质量和有效性,符合全球一体化要求,为贸易双方签署谅解备忘录提供便利。进行全身毒性试验应遵循此类原则。

5 急性全身毒性

5.1 总则

急性全身毒性提供根据预期临床途径进行的急性接触所产生的健康危害方面的基本信息。急性毒性试验可作为亚急性/亚慢性和其他试验确定剂量接触方式的初试步骤,并且可提供物质预期临床接触途径毒性作用模式方面的信息。本章中将涉及急性全身毒性试验中试验样品的给与方式、反应观察项目(如不良临床症状、体重变化、大体病理学发现)以及死亡。对出现严重及持续不适和痛苦的动物应立即实施安乐死,已知可导致显著疼痛或不适的腐蚀性或刺激性的材料宜报告,无需再进行试验。

注:美国替代方法论证协调委员会(ICCVAM)和欧洲替代方法验证中心(ECVAM)目前正在认可体外细胞毒性试验作为急性毒性试验的替代方法。

5.2 试验设计

5.2.1 准备

在试验前至少 5 d 使健康初成年动物适应实验室环境,如不到 5d 则应进行论证。将动物随机分组。

5.2.2 实验动物

5.2.2.1 种属选择

典型试验是采用啮齿类动物(大鼠、小鼠),4.2 和 4.3 中给出了动物模型的要求(年龄、体重等)。如采用非啮齿类动物应对其使用进行科学论证。

5.2.2.2 数量与性别

4.5 中规定了剂量组数目和类别、每组动物数和动物性别。

5.2.2.3 设施与饲养条件

实验室动物房的温度和相对湿度宜适合于动物种属,如小鼠需 $(22\pm 3)^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度(RH)30%~70%条件。典型的人工照明宜设置为12 h开启、12 h关闭。

饲养方面,可采用标准商业实验室饲料,无限制性饮用水供应。适当时,动物宜按性别群养或单独饲养,群养时每一笼具应不多于5只动物。

5.2.3 试验条件

5.2.3.1 剂量水平

剂量水平应按4.8的要求。

对照组动物除了不接触试验样品,其他处置方式应与试验组动物相同。

5.2.3.2 步骤

在24 h内,动物接受试验样品的一次剂量或必要时接受多次剂量。记录观察到的毒性症状,包括开始的时间、程度和持续时间。

动物的定期观察是很必要的,可保证动物不会由于自残、组织自溶或错放造成损耗。试验终结时对全部存活动物实施人道方式处死,观察到濒死动物时应取出实施人道方式处死。

观察中和实施人道终点时宜排除死亡动物由于试验样品毒性直接作用的可能性。

5.2.4 体重

在给与样品前即时测量动物体重,接触后头三天每天一次,如试验周期需要时第一次接触后每周一次和试验终结时测量体重。

5.2.5 临床观察

急性全身毒性试验观察周期应至少3 d,必要时可延长。4.10和附录C中给出了具体观察次数和观察项目。应进行适当次数的观察并采取相应的措施,使试验动物的损失降至最低,如对发现死亡的动物进行尸检或冷冻,并隔离或处死病弱或濒死的动物。笼边观察宜包括(但不限于此)皮肤与被毛、眼与黏膜的改变,以及呼吸、循环、自主和中枢神经系统、躯体运动神经活动性和行为模式等状况,采用附录C给出的描述语报告。

5.2.6 病理学

5.2.6.1 临床病理学

有临床指征时应考虑进行临床病理学评价,宜进行下列检查:

- a) 试验终结时考虑测定附录D中给出的血液学检查项目。
- b) 试验终结时考虑测定附录D中列出的临床生化血液方面的项目。急性接触试验适宜的测定项目包括肝和肾功能,必要时可进行其他临床生化检验,对观察到的作用进行扩展研究。

尿液检验不作为常规检验项目,仅在预期或观察到这方面的毒性反应的情况下才考虑进行。附录D列出了建议的测定项目。

5.2.6.2 大体病理学

如有临床指征应考虑进行大体病理学评价,包括检查体表、体表孔口、头部、胸(腹)腔及内脏等。必要时宜考虑记录脑、肝、肾、肾上腺和睾丸的重量,在取出后尽快称量其湿重,以防止干燥以及由此造成

的重量减轻。

5.2.6.3 组织病理学

典型的急性全身毒性试验不进行动物器官和组织的完全病理学检查,除非有大体病理学明确指征的情况。

5.3 评价指标

5.3.1 总则

在现有试验设计的基础上,采用下列评价指标:

a) 药典方法试验

- 在急性全身毒性试验观察期间,如接触试验样品的动物生物学反应不大于介质对照组动物,则试验样品符合试验要求。
- 采用 5 只动物,如两只或两只以上出现死亡、或两只或两只以上出现抽搐或俯卧、或 3 只或 3 只以上出现体重下降超过 10%,则试验样品不符合试验要求。
- 如试验组动物仅显示轻微生物学反应,而且不多于 1 只动物出现一般生物学反应症状或死亡,应采用 10 只动物为试验组重复进行试验。
- 重复试验时,如全部 10 只接触试验样品的动物在观察阶段显示没有大于介质对照组动物的科学意义上的生物学反应,则试验样品符合试验要求。

b) 非药典方法急性全身毒性试验

可采用更大范围的方法进行评价,包括临床和解剖病理学检查,这样可以排除重复试验的必要。急性接触试验如出现与平行对照组不确定的差异可进行再评价,宜解释差异性,适宜时再用 5 只动物扩展试验。

5.3.2 结果评价

对急性全身毒性试验中的发现宜结合以前已有的研究信息进行评价,并分析观察到的毒性作用及大体尸检发现。评价应包括试验物质剂量与发病率和异常症状严重性之间的关系,如行动和临床异常症状、大体损伤、体重变化、致死作用以及其他一般性或特异性作用。

5.4 最终报告

适当时,急性全身毒性试验最终试验报告应包括下列信息:

a) 试验物质:

- 适宜时,物理性质、纯度和生理化学性能;
- 其他表征数据。

b) 介质(适宜时):

- 如选择 ISO 10993-12 规定之外的介质,进行论证。

c) 实验动物:

- 所用动物种属、品系;
- 动物数量、年龄和性别;
- 来源,包括微生物学状况(如屏障饲养、常规情况),动物房条件(温度、湿度、垫料、光照、饲料等);
- 试验开始时的体重。

d) 试验条件:

- 剂量选择说明；
- 适宜时，试验物质配方/制备的详细说明；达到的浓度；稳定性和同质性；
- 试验物质接触的详细说明；
- 适宜时，试验物质浓度(ppm)转换至实际剂量(mg/kg 体重)；
- 饲料、水和垫料质量的详细说明。

e) 结果：

- 可以表格形式摘要给出数据，包括试验开始时每一对照组和试验组的动物数量、出现不良临床反应的动物数量、出现体重变化的动物数量；
- 体重/体重变化；
- 适宜时，饲料和水的消耗；
- 性别和剂量水平的毒性反应数据，包括毒性迹象；
- 临床观察情况、严重程度和持续时间(是否为可逆性)；
- 适宜时，神经行为性评价；
- 适宜时，所采用的血液学试验和结果以及相关基础数据；
- 适宜时，所采用的临床生化试验和结果以及相关基础数据；
- 适宜时，所采用的尿分析试验和结果以及相关基础数据；
- 适宜时，最终体重和器官重量数据；
- 尸检发现；
- 适宜时，全部组织病理学检查的详细描述；
- 所采用的结果统计学评价及其生物学意义讨论。

f) 结果讨论。

g) 结论。

h) 质量保证声明。

急性全身毒性试验可提供试验物质急性接触作用方面的信息，试验结果外推至人具有一定的限定性，但能够提供允许接触方面的有效信息。

6 重复接触全身毒性(亚急性、亚慢性和慢性全身毒性)

6.1 总则

急性毒性与一次剂量(或限制性接触)的不良作用有关，但许多医疗器械更常见的人体接触方式是重复或持续接触形式。重复或持续接触可能会由于化学物在组织内的积聚或其他机制产生反应，长期试验(亚急性、亚慢性、慢性)对于鉴别此类作用是非常重要的。

重复接触全身毒性试验可提供预期临床途径持续接触产生健康危害方面的信息，还可提供物质经预期临床接触途径毒性作用模式方面的信息。

重复接触全身毒性试验可提供毒性作用、靶器官、可逆性或其他作用方面的详细信息，并且可作为安全评估的依据。这些试验结果提供临床和解剖病理学研究导则范围方面的重要信息。

重复接触试验一般不给出重复试验的标准，剂量组的动物数量要适应记录结果的统计学评价要求(见表1)。

由于重复接触试验周期不同，应按照要求制备试验样品以确保其稳定性。

6.2 试验设计

6.2.1 准备

至少在试验前5 d使健康初成年动物适应实验室条件，将动物随机分为各试验组。

6.2.2 实验动物

6.2.2.1 种属选择

典型试验采用啮齿动物(大鼠、小鼠),4.2和4.3中给出了动物模型的要求(年龄、体重等)。如采用非啮齿动物应进行科学论证。

6.2.2.2 数量与性别

4.5.1中给出了剂量组、每组动物的数量和类别以及动物性别。如经科学论证,宜考虑采用高剂量水平卫星动物试验和对照动物,在超过最终处死期的预定时间,该试验组以及对照组动物可用于检查包括可逆性、持续性或迟发性毒性作用在内的试验反应。亚慢性试验的卫星组动物应至少保留28d。

6.2.2.3 设施与饲养条件

实验动物房温度和湿度宜适合动物种属,如大鼠需(22±3)℃、相对湿度(RH)30%~70%条件。典型的人工照明宜设置为12h开启、12h关闭。

饲养方面,可采用标准商业实验室饲料,无限制性饮用水供应。适当时,动物可按性别群养或单独饲养,群养时每一笼具宜不多于5只动物。

6.2.3 试验条件

6.2.3.1 剂量水平

重复接触全身毒性试验的实验动物和其他方面的投入,加上确立的人体安全性目标,可保证多个剂量组来测定剂量反应作用。剂量水平应按4.8中所述。

应限定医疗器械毒性试验所用剂量与风险评价的结果具有相关性,适当情况下权衡临床接触剂量与安全应用因素。对于较长期试验,宜包括至少三种剂量水平和适当的对照组。对照组动物除了不接触试验物质,其他处置方式宜与试验组动物完全一致。

重复接触全身毒性试验与经典的化学物毒性试验不同,医疗器械重复接触试验通常不会产生剂量反应作用,这样在最高剂量水平不一定产生毒性作用。然而,试验所采用的剂量范围将会提供有效的人体安全应用界限评估。

6.2.3.2 步骤

试验周期内动物最好每周7d接触试验样品,较长期重复接触试验每周5d接触是可接受的,但宜形成文件并进行论证。

6.2.4 体重

每次试验接触前宜即时测量体重,如试验周期表明需要时,首次接触后每周测量一次体重。试验结束时测量体重。

6.2.5 临床观察

重复剂量全身毒性试验观察期应与试验周期相适应,4.10和附录C给出了具体观察次数和观察项目。无论何种情况,观察次数和采取的适宜方式应能最大限度降低试验动物的损耗,如对死亡动物进行尸检或冷冻,隔离或处死病弱或濒死动物。笼边观察宜包括(但不仅限于此)皮肤与被毛、眼与黏膜的改变,以及呼吸、循环、自主和中枢神经系统、躯体运动神经活动性和行为模式等状况,采用附录C给出的描述语报告。

典型的眼科检查采用检眼镜或其他同类适宜器具,宜在接触试验物质之前和试验期间进行检查。最好检查所有动物,至少检查高剂量组和对照组动物。如检出眼部改变,则宜对全部动物进行检查。例外检查宜形成文件并进行论证。

6.2.6 病理学

6.2.6.1 临床病理学

宜进行下列检查:

- a) 试验结束时测定附录 D 中给出的血液学检查项目,根据试验周期宜考虑增加检验次数。
- b) 试验结束时测定附录 D 中列出的临床生化血液方面的项目,根据试验周期宜考虑增加检验次数。适合所有重复接触试验的测定项目包括电解质平衡、碳水化合物代谢,以及肝和肾功能。具体检验项目的选择还要根据试验物质作用模式方面的观察,附录 D 列出了建议的测定项目。必要时可进行其他临床生化检验,对观察到的作用进行扩展研究。

尿液检验不作为常规检验项目,仅在预期或观察到这方面的毒性反应的情况下才考虑进行。附录 D 列出了推荐的测定项目。

正常值的历史数据有利于建立基础水平,并可用于与当前试验对照进行比较。如历史基础数据不充分时,可考虑从同一年龄、性别、品系和来源的动物中采集该类信息,最好在同一实验室内进行。

6.2.6.2 大体病理学

全部动物宜进行完整的大体尸检,包括检查体表、体表孔口、头部、胸(腹)腔及内脏等。肾上腺、脑、附睾、心脏、肾、肝、卵巢、脾、睾丸、胸腺和子宫在取出后宜尽快称量其湿重,以防止干燥以及由此造成的重量减轻。将附录 E 中列出的器官和组织置于适宜的介质中保存,以进行下一步组织病理学检查。

6.2.6.3 组织病理学

- a) 宜对对照组和高剂量组动物的器官和组织进行完整的组织病理学检查。
- b) 宜检查所有大体损害。
- c) 如设有低、中剂量组,宜对动物肺脏进行组织病理学检查是否有感染迹象,因为这种检查便于判定动物的健康状态。还宜考虑对低、中剂量组进行肝和肾的组织病理学检查,其他组织病理学检查可不必要常规进行,但对高剂量组显示有损害迹象的器官则必须进行组织病理学检查。
- d) 如设有卫星组,可根据试验组动物出现的反应来确定需进行的组织和器官病理学检查。
- e) 慢性试验一般设有预警动物来监控感染性因子的产生,必要时可对预警动物进行血清学和组织学检查。

6.3 评价标准

6.3.1 总则

以表格形式总结给出数据,包括试验开始时每一试验组动物数量、出现损害迹象的动物数量、损害的类型以及出现每种损害类型动物的百分率。宜进行统计学评价,但首先要考虑生物学相关性。在设计试验时选择统计学方法,可采用已接受的常用统计学方法。

6.3.2 结果评价

对重复接触试验中的发现宜结合以前的研究发现、毒性作用方面的考虑及尸检与组织病理学方面的发现进行评价。评价应包括试验物质剂量与发病率和异常症状严重性之间的关系,包括行为和临床异常症状、大体损害、显微镜改变、靶器官判定、致死作用以及其他一般性或特异性作用。

6.4 最终报告

重复接触全身毒性试验最终报告应包括 5.4 中给出的信息,还应给出下列信息:

- 所采用的血液学试验和结果以及相关基础数据;
- 所采用的临床生化试验和结果以及相关基础数据;
- 组织病理学发现;
- 所采用的结果统计学评价及其生物学意义讨论。

长期全身毒性试验可提供试验物质重复接触作用方面的信息,试验结果外推至人具有一定的限定性,但能够提供人体允许接触方面的有效信息。

附录 A
(资料性附录)
接触途径

A.1 总则

A.2~A.10 列出了几种接触途径,也可采用其他更具有临床相关性的接触途径,应采用最接近临床的途径。如采用其他接触途径应予以论证,在设计相应试验时建议与专家进行磋商。

A.2 皮肤

经皮肤途径的全身毒性试验适用于表面器械,要注意限制动物以防试验样品经口进入。

A.3 植入

经植入途径的全身毒性试验适用于植入器械。该试验适宜于常规或特定部位应用可直接试验的材料,需考虑试验样品的形状和质地。植入试验方法见 ISO 10993-6。

A.4 吸入

经吸入途径的全身毒性试验适用于接触挥发性化学物气体沥滤环境或可能吸入气雾剂/微粒试验样品的器械。该接触途径的具体方法见吸入毒理学专著。

A.5 皮内

经皮内途径的全身毒性试验适用于皮内接触环境导致化学物溶出的器械,试验样品一般通过注射直接进入皮内部位。对多部位注射宜明确描述其位置并进行论证。

A.6 肌内

经肌内途径的全身毒性试验适用于肌肉组织接触环境导致化学物溶出的器械,试验样品一般通过注射或手术植入直接进入肌肉组织。需选择试验部位,以有效防止功能减退,或将由于注射、植入试验样品引起的肌纤维紧张所导致的神经损伤疼痛降至最低。重复剂量试验时宜轮换注射部位,例如非水溶性配方其沉淀物可保持>24 h。对多部位注射宜明确描述其位置并进行论证。

A.7 腹腔

经腹腔途径的全身毒性试验适用于液路器械,或腹腔接触环境导致化学物溶出的器械,也适用于不宜经静脉途径的浸提液,如非极性油浸提液以及含有微粒的浸提液。腹腔途径优于试验样品过滤后静脉注射。试验样品一般直接进入腹腔,计算剂量频率宜考虑经该途径接触的试验样品主要通过门静脉循环吸收,因此必须经肝脏到达全身循环。需注意不要注射到胃或肠腔内。

A.8 静脉

经静脉途径的全身毒性试验适用于直接或间接液路器械,或血液接触环境导致化学物溶出的器械。试验样品一般直接进入血管系统,如试验样品含有微粒,可采用腹腔途径或考虑样品过滤。附录 B 中列出了用于静脉试验的推荐剂量体积和注射次数,以及最常用的实验室动物种属。

需注意最大限度降低试验样品注射于血管外的可能性,如注射过程 ≥ 5 min,宜考虑采用双翼针或静脉留置针。

A.9 经口

经口途径的全身毒性试验适用于直接或间接接触口腔黏膜的器械,或其他肠道应用的产品。试验样品一般通过灌胃法接触。实验动物在接触试验样品之前通常禁食,禁食期可从数小时至过夜,动物在短期内有较高的代谢率。禁食期后称量动物体重,然后根据体重给予单次剂量的试验样品。灌胃后过 3 h~4 h 再投给饲料。如在一段时间内分次灌胃,则需要根据时间长短给动物提供饲料和水。

A.10 皮下

经皮下途径的全身毒性试验适用于皮下接触环境导致化学物溶出的器械。试验样品一般通过注射或植入直接进入皮下部位。对多部位注射宜明确描述其位置并进行论证。

附录 B
(资料性附录)
剂量体积

B.1 总则

人道主义动物试验原则要求应采取合理措施最大限度降低或消除任何不良生理或病理作用。表 B.1 中列出的剂量体积值为文献中报告的最大限值,这些剂量值不宜作为本部分的推荐值,但研究人员可在考虑诸如体重/表面积、接触速率、试验样品物理化学与生物学特性以及动物品系等因素时采用上限值,在考虑到这些调整因素的情况下尽量降低剂量体积。

表 B.1 试验样品接触最大剂量体积

动物种属	皮下 mL/kg	肌内 mL/kg	腹腔 mL/kg	经口 mL/kg	静脉 mL/kg
大鼠	20	1	20	50	40
小鼠	50	2	50	50	50
家兔	10	1	20	20	10
犬	2	1	20	20	10
猴	5	1	20	15	10

注：国家法规可能替代所列出的最大体积。啮齿动物肌内注射时一般推荐每一注射点不超过 0.1 mL(小鼠)和 0.2 mL(大鼠)。

B.2 剂量体积参考文献

见参考文献第 2 部分[10]~[15]。

附录 C
(资料性附录)
常见临床症状与观察项目

表 C.1 常见临床症状与观察项目

临床观察	观察症状	涉及的系统
呼吸	呼吸困难(腹式呼吸、气喘)、呼吸暂停、紫绀、呼吸急促、鼻流液	中枢神经系统(CNS)、肺、心脏
肌肉运动	嗜睡减轻或加重、扶正缺失、感觉缺乏、全身僵硬、共济失调、异常运动、俯卧、震颤、肌束抽搐	CNS、躯体肌肉、感觉、神经肌肉、自主性
痉挛	阵挛、强直、强直性阵挛、昏厥、角弓反张	CNS、神经肌肉、自主性、呼吸
反射	角膜、翻正、牵张、对光、惊跳反射	CNS、感觉、自主性、神经肌肉
眼症状	流泪、瞳孔缩小/散大、眼球突出、上睑下垂、混浊、虹膜炎、结膜炎、血泪症、瞬膜松弛	自主性、刺激性
心血管症状	心动过缓、心动过速、心律不齐、血管舒张、血管收缩	CNS、自主性、心脏、肺
流涎	过多	自主性
立毛	被毛粗糙	自主性
痛觉丧失	反应降低	CNS、感觉
肌肉状态	张力减退、张力亢进	自主性
胃肠	软便、腹泻、呕吐、多尿、鼻液溢	CNS、自主性、感觉、胃肠运动性、肾
皮肤	水肿、红斑	组织损害、刺激性

附录 D
(资料性附录)

建议的血液学、临床生化和尿液测定法

D.1 血液学

- 凝血(PT、APTT)
- 血红蛋白浓度
- 红细胞压积
- 血小板计数
- 红细胞计数
- 白细胞计数
- 白细胞分类

D.2 临床生化

- 白蛋白
- 碱性磷酸酶(ALP)
- 丙氨酸氨基转移酶(ALT)
- 天门冬氨酸氨基转移酶(AST)
- 钙
- 氯化物
- 胆固醇
- 肌酐
- 谷氨酰转肽酶(GGT)
- 葡萄糖
- 无机磷
- 钾
- 钠
- 总胆红素
- 总蛋白
- 甘油三酯
- 尿素氮
- 其他酶类,科学上适宜时
- 可考虑将总免疫球蛋白水平作为评价免疫毒性的指标

D.3 尿液分析(定时采集,如 16 h~24 h)

- 外观
- 胆红素
- 葡萄糖

- 酮体
- 隐血
- 蛋白
- 沉渣
- 比重或渗透压
- 体积
- 如怀疑试验样品导致特异性器官毒性时,进行其他适宜的科学试验(通常采集的样品要求冷藏)

附录 E

(资料性附录)

建议进行组织病理学评价的器官

- 肾上腺*¹⁾
- 全部大体损害(包括试验部位)
- 主动脉
- 骨髓(股骨、肋骨或胸骨)
- 脑*(有代表性部分,包括大脑、小脑和脑桥)
- 盲肠
- 结肠
- 十二指肠
- 附睾*
- 食管
- 眼
- 胆囊(如有)
- 心脏*
- 回肠
- 空肠
- 肾*
- 肝*
- 肺和支气管(经充气并浸入固定剂内保存)
- 淋巴结(接触局部位置和远端全身作用的淋巴结)
- 乳腺(雌性)
- 肌肉(骨骼)
- 鼻甲骨(用于吸入试验)
- 神经(坐骨神经或胫骨神经,最好贴近肌肉)
- 卵巢*
- 胰腺
- 甲状旁腺
- 脑垂体
- 前列腺
- 直肠
- 唾液腺
- 精囊
- 皮肤
- 脊髓
- 脾*

1) 标星号(*)的器官/组织在进行组织病理学评价时宜称重,如有科学上的适宜性,其他器官也要称重。临床和其他发现可显示检查其他组织的必要性,而且宜根据已知的试验物质特性保存可能的靶器官。

对照组和最高剂量组全部动物的保存器官和组织宜进行完整的组织病理学检查。如最高剂量组观察到相关接触改变,此类检查和必要的靶器官/组织、特异性器官/组织检查最好扩展至其他全部剂量组。

- 胸骨
- 胃
- 睾丸*
- 胸腺*
- 甲状腺
- 气管
- 膀胱
- 子宫* (包括宫颈和输卵管)
- 阴道

附 录 F
(资料性附录)
材料介导热原信息

致热性是某种化学制剂或其他能产生发热反应物质的一种特性,致热性反应可能是由材料介导、内毒素介导或其他物质所介导,比如革兰氏阳性细菌和真菌成分。本部分所涉及的是材料介导的致热性。

对新型医疗器械没有必要都要进行体内致热性检验,但是材料如含有引起过热原反应的新化学成分或物质,则宜进行材料介导致热性评价。内毒素污染可能是致热反应的一个原因,不应与材料介导的致热反应相混淆。

——内毒素介导的致热性

这种致热形式源自于革兰氏阴性细菌的生物活性内毒素,通常为医疗器械制造过程中的诱导发热的污染物,可采用特异性细菌内毒素试验(鲎试剂法)²⁾测定器械内毒素含量来进行评价,不用进行家兔试验。

——材料介导的致热性

该类型致热性为非内毒素相关因素引起,下面列出的是已知非内毒素产生致热反应的物质:

- 内源性热原(如 IL-1、IL-6、TNF α 、INF- γ)
- 前列腺素
- 诱导剂(如多聚腺苷酸、多聚尿苷酸、多聚生物原酸和多聚核糖核苷酸)
- 干扰体温调节中枢的物质(如 LSD、可卡因、吗啡)
- 氧化磷酸化解偶联剂(如 4,6-二硝邻甲酚、二硝基酚、苦味酸)
- 苯基- β -萘基胺和 2-羟基丁醛- α -萘胺(发热机制未知)
- 细菌外毒素(如 TSST-1、SEA、Spe F、Spe C)
- 神经递质(如去甲肾上腺素、血清素)
- 某些应用情况下的金属,如镍盐

当前推荐采用家兔热原试验检验材料介导的致热性,可测定宽范围的致热活性。兔热原试验方法见中华人民共和国药典、美国药典、欧洲药典和日本药局方。细菌内毒素试验不适合用于检验材料的致热性,目前正在发展非内毒素致热性检验的其他方法并在进行确认,此类方法将考虑替代兔热原试验。

最近在研究开发的测定方法通过测定单核细胞/巨噬细胞释放的细胞因子来检测革兰氏阴性和阳性细菌及真菌成分相关致热性,这些方法尚未被认可用于测定材料介导的致热性。

2) YY/T 0618—2007 细菌内毒素试验方法 常规监控与跳批检验。

参 考 文 献

1 通用文献

- [1] U. S. /EPA PB 86/108958 and 89/124077
- [2] U. S. /FDA Toxicological principles for the safety assessment of direct food additives,1982
- [3] U. S. Code of Federal Regulation 1500. 40;Method of Testing Toxic Substances
- [4] United States Pharmacopoeia 26;Biological Reactivity Tests, In Vivo; The National Formulary 21, Rockville, MD; Pharmacopoeial Convention, 2003, pp. 2028-2032
- [5] ASTM F 619-03, *Standard Practice for Extraction of Medical Plastics*
- [6] SN 119800;1990, *Biological Evaluation of Dental Materials*
- [7] European Pharmacopoeia 4th Edition, 2002
- [8] MHLW Notification No. 0213001 (2003. 02. 13); *Principles for Biological Safety Evaluation of Medical Devices*
- [9] HALLE, W. (2003) The Registry of Cytotoxicity: *Toxicity testing in cell cultures to predict acute toxicity (LD₅₀) and to reduce animal testing*, ATLA 31; 89-98

2 剂量体积文献

- [10] HULL, R. M. Guideline limit volumes for dosing animals in the preclinical stage of safety evaluation, *Human and Environmental Toxicology*, 1995, 14, pp. 305-307
 - [11] DERELANKO, M. J. and HOLLINGER, M. A. *CRC Handbook of Toxicology*, CRC Press, NY, 2nd edition, 2001, p. 98
 - [12] DIEHL, K. -H. *et al.* A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes, *J. Applied Toxicology*, 21, 2001, pp. 15-23
 - [13] MORTON, D. *et al.* Effects of infusion rates in rats receiving repeated large volumes of intravenous saline solution, *Laboratory Animal Sciences*, 47, 1997, pp. 656-659
 - [14] RICHMOND, J. D. Dose limit volumes; The United Kingdom view — past and present. Presented at the Humane Society of the United States — Refinement in Toxicology Testing: Dosing Data: Volume and Frequency, March 14, 1999, New Orleans, LA
 - [15] MORTON, D. B. *et al.* Refining procedures for the administration of substances. Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement, *Laboratory Animals*, 35, 2001, pp 1-41
-

中 华 人 民 共 和 国

国 家 标 准

医 疗 器 械 生 物 学 评 价

第 11 部 分 : 全 身 毒 性 试 验

GB/T 16886.11—2011/ISO 10993-11:2006

*

中 国 标 准 出 版 社 出 版 发 行

北 京 市 朝 阳 区 和 平 里 西 街 甲 2 号 (100013)

北 京 市 西 城 区 三 里 河 北 街 16 号 (100045)

网 址 www.spc.net.cn

总 编 室 : (010)64275323 发 行 中 心 : (010)51780235

读 者 服 务 部 : (010)68523946

中 国 标 准 出 版 社 秦 皇 岛 印 刷 厂 印 刷

各 地 新 华 书 店 经 销

*

开 本 880×1230 1/16 印 张 2 字 数 44 千 字

2012 年 3 月 第 一 版 2012 年 3 月 第 一 次 印 刷

*

书 号 : 155066 · 1-44518 定 价 30.00 元

如 有 印 装 差 错 由 本 社 发 行 中 心 调 换

版 权 专 有 侵 权 必 究

举 报 电 话 : (010)68510107



GB/T 16886.11-2011