**小鼠胚胎试验用辅助生殖技术器械**

**行业和美国食品药品监督管理局工作人员指南**

**文件发布日期：2021年1月5日**

**文件草案发布日期：2019年6月13日**

如对本文件有任何疑问，请致电（301）796-7030联系OHT3：胃肠、妇科、综合医院和泌尿科器械办公室/DHT3B：生殖、妇科和泌尿科器械部。

|  |  |
| --- | --- |
|  | **美国卫生与公共服务部**  **美国食品药品监督管理局**  **医疗器械和辐射健康中心** |

**前言**

**公众意见**

电子版意见和建议可随时提交至[http://www.regulations.gov](https://www.regulations.gov/)，供FDA审议。可将书面意见提交至：美国食品药品监督管理局备案文件管理部，5630 Fishers Lane, Room 1061, (HFA-305), Rockville, MD 20852。所有意见或建议均应注明备案文件编号FDA-2019-D-2105。下次修订或更新本文件时，FDA将考虑实施该意见。

**更多副本**

更多副本可通过互联网获取。您也可以通过电子邮件发送请求至[CDRH- Guidance@fda.hhs.gov](mailto:CDRH-Guidance@fda.hhs.gov)获取本指南的副本。请在请求中注明16015号文件和指南的完整标题。

**小鼠胚胎试验用辅助生殖技术器械**

**行业和美国食品药品监督管理局工作人员指南**

|  |
| --- |
| ***本指南代表美国食品药品监督管理局（FDA或本机构）目前关于该主题的思考。其不会为任何人创造或赋予任何权利，也不会对FDA或公众产生约束。如果替代方法满足适用的法律法规要求，则可以使用该方法。如需讨论替代方法，请联系标题页负责实施本指南文件的FDA工作人员或办公室。*** |

## 引言

FDA发布本指南旨在概述开展小鼠胚胎试验（MEA）的建议，以支持辅助生殖技术（ART）器械的上市前申请和批次放行。大多数ART器械在其预期使用过程中直接或间接接触配子（即精子和卵母细胞）和/或胚胎。MEA用于评估接触配子和/或胚胎的器械的潜在胚胎毒性。21 CFR 844下的几项分类法规包括需要MEA试验或信息的特殊控制。MEA也可用于支持使用过程中旨在接触配子和/或胚胎的其他器械的上市前申请。然而，没有描述如何开展MEA的自愿共识标准。本指南提供了开展MEA的建议，以支持旨在接触配子和/或胚胎的器械的上市前申请，并遵守21 CFR 844下分类的需MEA试验或信息的器械的特殊控制。

关于本文件中引用的FDA认可标准的最新版本，请参见[FDA认可共识标准数据库](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfStandards/search.cfm)。[[1]](#footnote-1)关于在监管申请中使用共识标准的更多信息，请参见标题为[《医疗器械上市前申请中适当使用自愿共识标准》](https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/appropriate-use-voluntary-consensus-standards-premarket-submissions-medical-devices)的FDA指南。[[2]](#footnote-2)

FDA指导性文件，包括本指南在内，不具有法律强制责任。相反，指南表明了FDA目前关于该主题的思考，除非引用具体的法规或法律要求，否则只应视为建议。在FDA指南中使用词语“*应*”是指建议或推荐进行某一事项，并非强制要求。

## 范围

本文件的范围仅限于受21 CFR 844监管、与配子和/或胚胎直接或间接接触的器械。本指南为如何遵守21 CFR 844下分类的需要MEA试验或信息的器械的特殊控制提供了建议。[[3]](#footnote-3)本指南也适用于可使用MEA试验或信息来支持上市前申请的器械。在使用过程中，仅接触精子的器械（例如，精子处理或储存介质、分离器械、处理实验室器皿）和人类精子存活试验（HSSA）不属于本指南文件的范围。

## MEA试验方法

FDA建议应采用MEA试验来评估ART器械的胚胎毒性，该器械直接和/或间接接触配子和/或胚胎。MEA评估单细胞或双细胞阶段胚胎的囊胚发育（即单细胞系统或双细胞系统）。FDA了解用于评估胚胎毒性的单细胞和双细胞系统，并认为两种方法均可接受。FDA对MEA试验的具体建议如下所述。

### 试验样品

MEA应在最终成品ART器械上开展（例如，最终包装中的无菌过滤介质）。每项MEA试验评价的器械数量应足以确保稳健评价。FDA建议在每项试验中至少评价3件单个器械，以说明器械之间的潜在可变性。为协助上市前申请，申请方应在零点（即新制造的器械）和拟定有效期结束时对一批次的器械进行试验。FDA认为，根据目前FDA认可的ASTM F1980：《医疗器械无菌屏障系统加速老化标准指南》版本，加速老化也可用于开发拟定货架期结束时的试验样品。

根据器械类型和预期用途，MEA试验样品应按如下所述进行制备：

1. 用于MEA的液体器械应在未浸提或未稀释（即纯品）的情况下按规定进行试验。用于MEA的液体器械以浓缩形式予以提供，且应在试验前按照使用说明进行制备。
2. 用于卵母细胞/胚胎培养的油品应在预期使用条件下进行评价。在一滴覆盖有培养油的胚胎培养基中培养胚胎。下列第III.C节推荐了本研究中使用的培养基类型。
3. 适用于胚胎培养的平板和培养皿应直接进行试验，无需浸提。
4. 不适用于胚胎培养的固体器件（如胚胎移植导管、低温保存器械）应在使用前进行浸提。只有与卵母细胞或胚胎直接和/或间接接触的部分器械才可用于制备试验样品浸提液。

### 试验样品浸提液的制备

当制备固体器械（不适用于胚胎培养）的试验样品浸提液时，该器械应在37°C标准胚胎培养基中浸提。对于临床使用时间小于30分钟的器械，应浸提至少30分钟，以代表最差情况下的暴露条件。对于临床使用超过30分钟的器械，该器械的浸提时间应至少是临床使用时间的两倍，以代表最差情况下的暴露条件。FDA建议浸提介质的体积应符合FDA指南《使用国际标准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》[[4]](#footnote-4)以及《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》的要求。

### 试验程序

#### 培养基和实验室器皿

除试验样品外，研究中使用的培养基和实验室器皿应旨在用于ART程序中。FDA建议，ART程序期间适用于胚胎培养的培养基应用于MEA。制造商可使用对外公开的FDA数据库[[5]](#footnote-5)查询培养基和实验器皿的上市情况，并在上市前申请中向FDA提供该信息。

#### 小鼠胚胎

从杂交小鼠品系（如CBA/B6杂交品系[[6]](#footnote-6)）中获取单细胞或双细胞胚胎，这些品系对检测胚胎毒性有足够的敏感性。[[7]](#footnote-7)FDA建议MEA中使用的小鼠品系应具有科学合理性。在每个MEA中，应将至少21个胚胎暴露于试验样品，同时将至少15个胚胎暴露于对照培养基。FDA认为，根据之前合法上市器械的申请，该样本量足以评价潜在胚胎毒性并控制生物变异性。FDA建议，一起培养的胚胎数量应具有合理性，因为成群培养胚胎时，检测的敏感性可能会降低。

#### 对照组

每个MEA应包括一个对照组，该对照组使用的培养基适用于ART程序期间的胚胎培养，且试验程序与试验样品组相同。

#### 小鼠胚胎暴露于试验样品的持续时间

对于代表预期使用的MEA试验暴露，FDA建议：

* + 在标准MEA中，如果使用单细胞系统，应在正常培养条件（即37°C和5% CO2）下将胚胎置于试验样品浸提液中培养96小时，如果使用双细胞系统，则应培养72小时。FDA建议，对培养条件的修改应具有合理性。
  + 如果器械系用于胚胎培养的平板或培养皿，则应在正常培养条件下，在标准胚胎培养基中直接孵育胚胎，直至MEA培养时间结束。
  + 如果器械系一步式培养基（例如，用于培养胚胎至发育第5/6天的单一培养基），应使用试验样品进行MEA，直至正常培养条件下的预期孵育期结束。例如，对于预期使用到孵育第6天的培养基，应在培养6天后（包括开始和结束日）评价MEA（120小时）。
  + 如果器械系一种培养基产品，其预期接触持续时间比标准的MEA短（例如，在双细胞系统中少于72小时，或在单细胞系统中少于96小时），则应将胚胎暴露于器械以开展MEA，从而达到器械标签中规定的总预期使用时间。然后，将胚胎转移到标准培养基中继续培养。
  + 如果器械系培养油，胚胎应在覆盖有器械的标准培养基中于正常培养条件下培养96小时（如果使用单细胞系统），或72小时（如果使用双细胞系统）。
  + 如果器械包含一系列依次使用的溶液（例如，卵母细胞或胚胎的玻璃化冷冻和复温），则应采用步入/步出的方法进行检测。该方法让胚胎依次暴露在所有的玻璃化冷冻溶液和复温溶液中。在每种溶液中的暴露量应符合标签中描述的最大暴露条件。步入/步出暴露后，胚胎应在标准培养基中于正常培养条件下培养，直至MEA培养时间结束。

#### 胚胎发育的评价

在胚胎培养完成后，应根据III.D节所述的验收标准对胚胎的发育进行评价。

### 验收标准

根据使用的系统，FDA建议对试验样品和对照品采用以下MEA验收标准：

1. 单细胞系统：≥ 80%的胚胎在96个小时发育成扩张囊胚；或
2. 双细胞系统：≥ 80%的胚胎在72个小时发育成扩张囊胚。

当孵育试验样品超过96个小时时，试验报告应包括实际的孵育期，并提供孵育期的合理依据。申请方还应根据试验程序提出验收标准。

### 试验报告

关于本节所述试验的试验报告的建议内容和格式信息，请参阅FDA指南[《上市前申请中非临床实验台性能试验完整试验报告的建议内容和格式》](https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/recommended-content-and-format-non-clinical-bench-performance-testing-information-premarket)。[[8]](#footnote-8)为了便于FDA审查，FDA建议您的MEA完整试验报告还应包括使用的MEA试验方法，包括小鼠品系、试验组和对照组的胚胎数量、培养条件（例如，气体、温度、培养液滴大小、每滴的胚胎数量）和程序。应提供对照组和试验样品组所用胚胎培养基的名称（如适用）。

## 器械标签中的MEA信息

在开展MEA试验时，FDA建议包装和包装瓶标签以及使用说明书应陈述使用的MEA验收标准。

## 检验报告（COA）

开展MEA试验时，FDA建议所有COA均应陈述所使用的MEA验收标准，并包括特定批次的通过/未通过结果。

1. 可登录以下网址获取：[https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfStandards/search.cfm.](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfStandards/search.cfm) [↑](#footnote-ref-1)
2. 可登录以下网址获取：[https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/appropriate-use- voluntary-consensus-standards-premarket-submissions-medical-devices.](http://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/appropriate-use-) [↑](#footnote-ref-2)
3. 这些分类法规包括21 CFR 884.6100、884.6110、884.6130、884.6160、884.6165、884.6170、884.6180和884.6195。 [↑](#footnote-ref-3)
4. [https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/use-international-standard-iso-10993-](https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/use-international-standard-iso-10993-1-biological-evaluation-medical-devices-part-1-evaluation-and) [1-biological-evaluation-medical-devices-part-1-evaluation-and](https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/use-international-standard-iso-10993-1-biological-evaluation-medical-devices-part-1-evaluation-and). [↑](#footnote-ref-4)
5. 510(k)数据库可登录以下网址获取：[https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfPMN/pmn.cfm.](https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfPMN/pmn.cfm) [↑](#footnote-ref-5)
6. 有关胚胎品系的更多信息，请参见（1）Khan, Zaraq, et al. “Mouse strain and quality control testing: improved sensitivity of the mouse embryo assay with embryos from outbred mice.” *Fertility and sterility* 99.3 (2013): 847-854; and (2) Punt–van der Zalm, J. P. E. M., et al. “Toxicity testing of human assisted reproduction devices using the mouse embryo assay.”*Reproductive biomedicine online* 18.4 (2009): 529-535. [↑](#footnote-ref-6)
7. FDA支持“3R”原则，即在可行情况下减少、改进和取代试验中的动物使用。如果申请方希望使用其认为合适、充分、经确认和可行的非动物试验方法，我局鼓励申请方与我局协商。我局将考虑这种备选方法是否可被评价为等同于动物试验方法。 [↑](#footnote-ref-7)
8. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/recommended-content-and-format-non-clinical-bench-performance-testing-information-premarket>. [↑](#footnote-ref-8)