



动物源性医疗器械的技术审评要求及常见问题分析

国家食品药品监督管理总局
医疗器械技术审评中心
赵 鹏

动物源性医疗器械



胶原蛋白植入剂



胶原蛋白海绵



人工心脏瓣膜（生物瓣）



动物源性医疗器械

■ 来源于脊椎动物

- 胶原/明胶止血材料、敷料
- 胶原植入材料（填充、修补）
- 羊肠线
- 生物瓣膜
- 异种骨填充材料
- 医用透明质酸钠凝胶

■ 来源于无脊椎动物

- 壳聚糖制品（虾、蟹等）
- 骨蜡（蜜蜂）
- 蚕丝线
- 珊瑚制品



动物源性医疗器械

■ 单独申报不属于器械，但可能作为器械的组成部分

- 肝素（也有人工合成的）
- 硫酸软骨素
- 酶
- 抗体
- 血清蛋白
- 脂肪酸
- 氨基酸

生产过程中使用了动物源性材料，是否属于动物源性医疗器械？



为什么使用动物源性材料?

■ 人工合成材料及非动物源天然材料

- 生物相容性的局限性
- 结构、力学特性的局限性

■ 自体组织

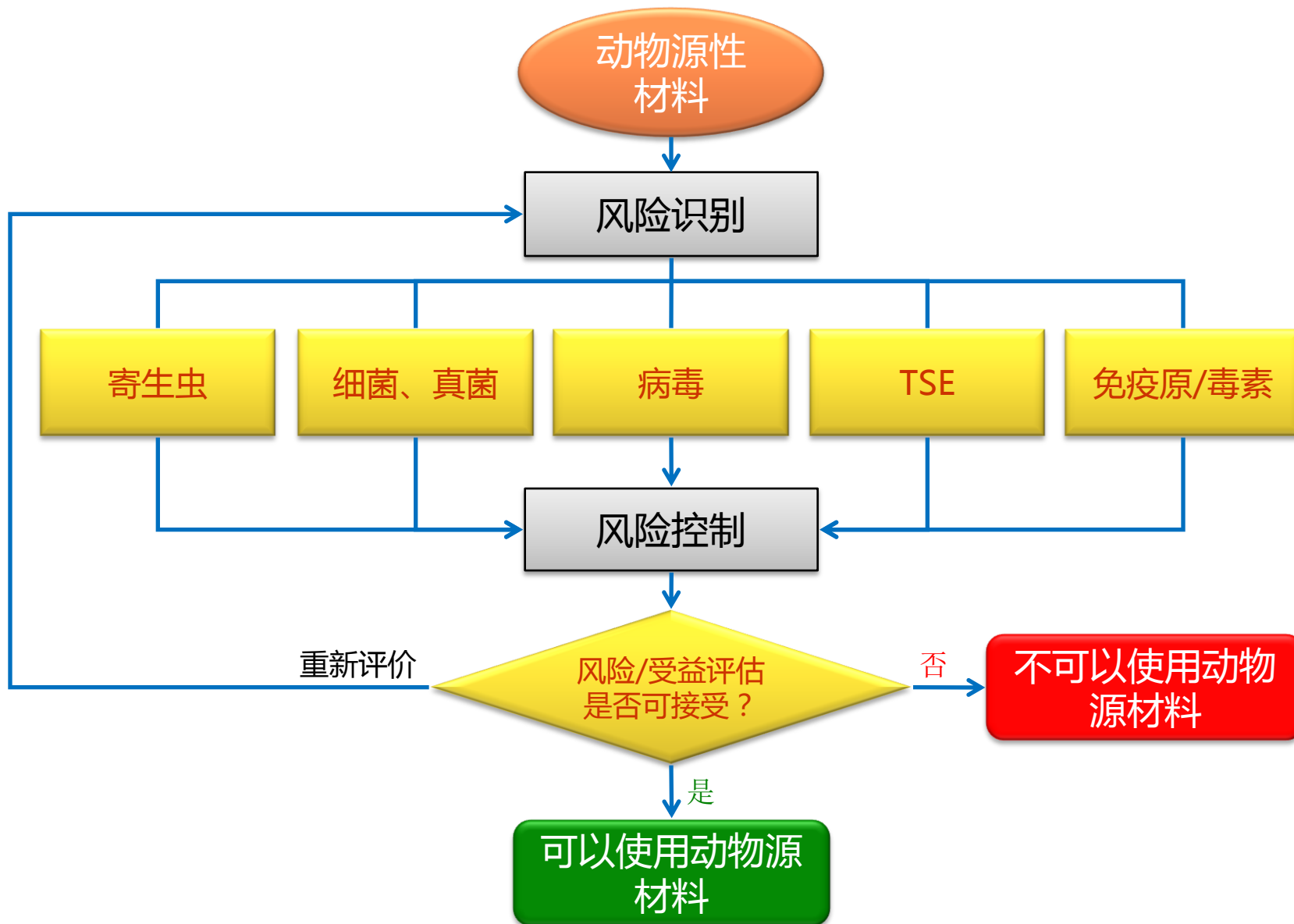
- 来源有限
- 增加创伤
- 难以商品化

■ 动物源材料和同种异体材料

- 病毒和/或传染性病原体风险
- 免疫原性风险

■ 对动物源或同种异体材料的应用，应建立在充分的材料对比分析和风险/受益评价基础上

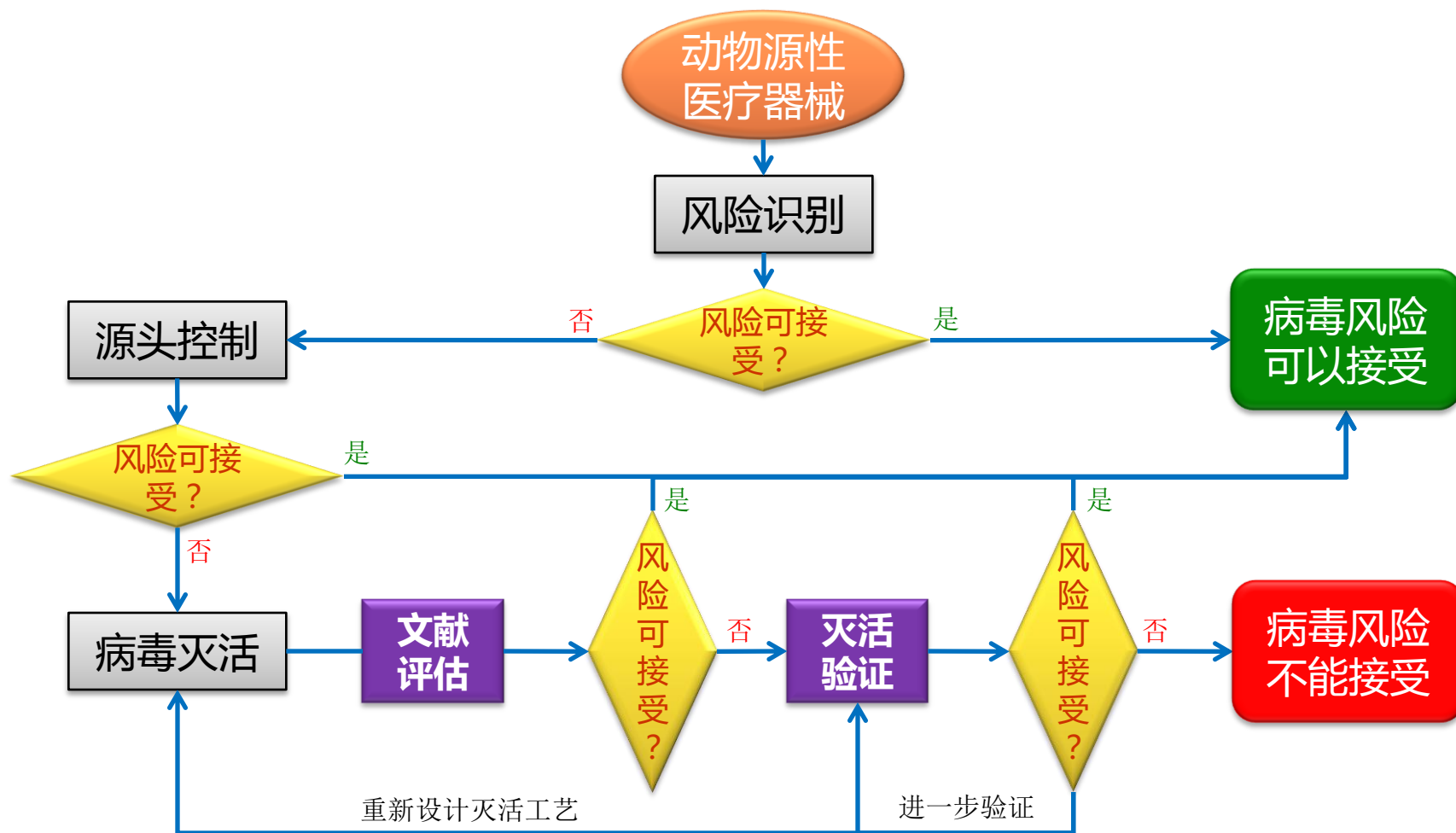




病毒和/或传染性病原体感染风险



病毒和/或传染性病原体感染风险



病毒和/或传染性病原体感染风险

- 风险识别——风险来自哪里？
 - 动物本身
 - 动物的饲养、运输
 - 动物的屠宰
 - 动物组织的采集、保存、处理、加工
 - 动物组织加工品的采购、运输、储存
 - 动物源医疗器械的生产
 - 动物源医疗器械的使用



■ 风险控制——与风险控制有关的因素

- 动物的种属、品系、家族病史等
- 动物的饲养地区（是否疫区）、饲养场所（是否具有相应资质，是否风险可控）、饲料种类（是否采用哺乳动物来源的蛋白质饲料）
- 动物是否按要求进行防疫接种，动物疾病治疗、防疫接种人员是否具有相应资质
- 动物的屠宰场所是否具有相应资质、屠宰方式是否规范合理
- 动物取材时的年龄、所采集的动物组织部位（组织类型和解剖来源）、健康状况
- 动物、动物组织加工品的出售和运输是否按要求检疫
- 从动物的饲养、运输、屠宰、组织的采集、保存、处理、加工，到动物组织加工品的采购、运输、储存，直至动物源医疗器械的生产，以上所有环节的过程是否规范、是否可追溯
- 动物源医疗器械的生产环境、生产工艺
- 动物源医疗器械的使用方式、与人体接触方式



接触不同人体组织的风险水平

风险高

- 接触中枢神经系统的产品（包括眼内途径）
- 接触循环系统、非自然腔道摄入或有创器械及开放性创面上（包括溃疡）应用的器械
- 接触粘膜（如结膜、鼻内、支气管、直肠、阴道和膀胱等）的产品,需保持口中（颊、舌下）或被吞咽的产品
- 用于未损伤表皮的产品

风险低



■ 医疗器械生产企业应该怎样控制相关风险

- 原材料采购环节

- 与具有相应资质的原材料供应商建立相对稳定的采购关系
- 向原材料供应商索取相应的风险控制文件
- 对原材料供应商进行定期的监督

- 医疗器械生产环节

- 对生产环境、过程进行有效控制
- 采取经过验证有效的病毒和/或传染性病原体灭活/去除工艺
- 终产品检验（不适用于所有器械）

- 医疗器械使用环节

- 通过产品使用说明书进行控制

- 所有环节

- 建立可追溯体系（动物的地理来源、取材部位、可追溯性标识、动物饲养检疫、屠宰及加工方面的情况），保存每一批动物的可追溯文件



■ 有哪些病毒去除/灭活工艺

- 化学灭活法（过氧乙酸、乙醇、戊二醛、次氯酸钠.....）
- 酸处理法
- 碱处理法
- 射线灭活法（Co60伽马射线辐照）
- 巴氏消毒法（一般60摄氏度，10小时）
- 干热灭活法（对于冻干产品）
- 有机溶剂/去污剂处理法
-



■ 如何选择病毒去除/灭活工艺

- 借用医疗器械生产过程中的组织处理工艺或其它生产步骤，如：
 - 有机溶剂/去污剂处理——清洗工艺
 - 碱处理、醛处理——皂化工艺、交联工艺
 - Co60射线辐照、高温——灭菌工艺
- 如果已有的生产工艺经验证不能满足要求，则需添加额外的病毒灭活工艺，建议每添加一个步骤后进行验证，以防过度处理。充分评估病毒灭活工艺对产品本身性能的不利影响
- 病毒灭活工艺本身的公认性、可靠性、重现性、易放大性及经济性
- 需注意病毒灭活工艺对样品的均一性（温度分布、射线剂量分布、灭活剂浓度分布）



■ 为什么要对病毒去除/灭活工艺进行验证

- 是否可引用文献数据证明？

- 同一病毒灭活工艺作用于不同产品的效果不同

- ▲ 样品的状态、形状、结构.....均影响灭活效果

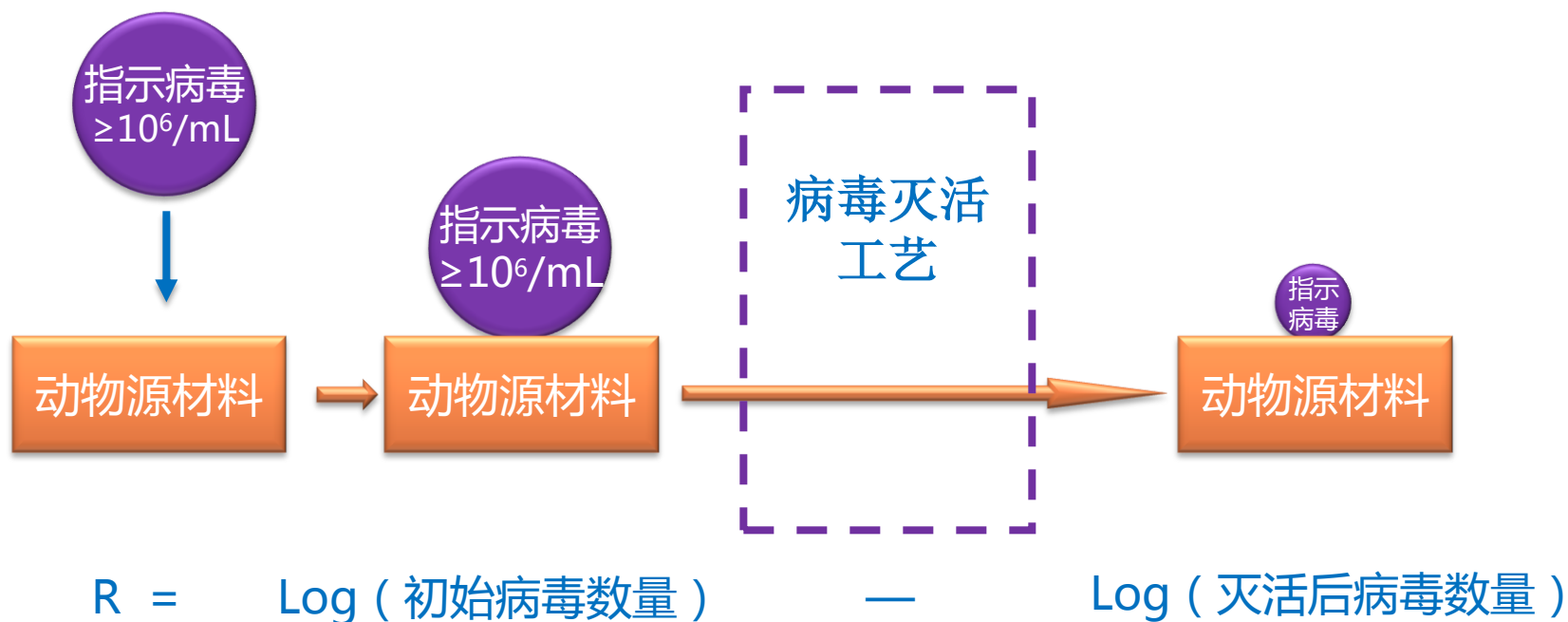
- 具体过程和设备需验证

- 特例：动物油脂衍生物、兽炭和氨基酸采用特定的处理工艺（YY/T 0771-2009）

- 特例：白蛋白——可不要求进行病毒灭活验证。但是必须对巴氏消毒法所用设施进行验证，使巴氏消毒各参数符合要求（包括制品内温度分布的均一性和灭活时间）。（国药监注[2002]160号 《血液制品去除 / 灭活病毒技术方法及验证指导原则》）



■ 如何进行病毒去除/灭活工艺有效性验证



■ 如何进行病毒去除/灭活工艺有效性验证

- 验证研究的设计

- 病毒定量检测分析方法需具有充分的灵敏度和可重复性，需设计适宜的重复样本试验和对照，以确保结果具有统计学意义上足够的精确性。考虑研究材料中的某些特殊成分可能会对检测的准确度造成干扰，尽量设计采取相应措施避免这些干扰。

▲ 同一检测方法下样本组内和组间差异的95%可信限宜达到 $\pm 0.5\log$ 以内

- 采用模拟生产工艺（缩小的工艺）的方法，需尽可能模拟真实生产过程，按照能代表去除和/或灭活病毒能力最差情况的条件进行设计。需分析生产工艺中各种参数的偏差对病毒灭活效果的影响。
- 如果可能，试验样品中的病毒宜不经过进一步的处理（如超速离心、透析）或储存而直接进行检测。



■ 如何进行病毒去除/灭活工艺有效性验证

- 验证研究的设计

- 病毒灭活、去除的有效性同材料的结构、尺寸和形状以及病毒在材料中的分布有关，在研究设计中宜对此予以考虑。
- 为达到有效的去除/灭活效果，通常需联合使用灭活与去除步骤，甚至多个从机制上能够互补的去除和/或灭活步骤。
- 要获得对每个有效步骤的准确评价，必须保证每个步骤在起始时加入了足够多的病毒负载量。
- 灭活研究宜设计为在不同的时间点采样，从而建立灭活动力学曲线。



■ 如何进行病毒去除/灭活工艺有效性验证

- 指示病毒的选择

- 选择与生产过程中采用的原材料可能含有病毒种类的相关病毒，不能用相关病毒的，要选择与其理化性质尽可能相似的指示病毒
- 所选择的病毒理化性质需有代表性（病毒大小、核酸类型以及有无包膜），其中至少需包括一种对物理和/或化学处理有明显抗性的病毒
- 指示病毒滴度需要尽可能高（病毒滴度一般需 $\geq 10^6/\text{ml}$ ）。



■ 如何进行病毒去除/灭活工艺有效性验证

- 指示病毒的选择

- 至少四种（如有特殊情况不够四种需提供充分理由）：

- ▲ RNA 有包膜

- ▲ DNA 有包膜

- ▲ RNA 无包膜

- ▲ DNA 无包膜

（也可以用不同的灭活方法分别灭活不同类型的病毒）

- 同时满足：

- ▲ 大小：直径 20~200nm

- ▲ 至少有一种对所用的病毒灭活工艺有明显抗性的病毒



■ 如何进行病毒去除/灭活工艺有效性验证

- 指示病毒的选择

- 《动物源性医疗器械申报资料指导原则》中列举了已用于病毒清除研究的病毒。这些病毒根据生产工艺研究情况，对物理化学处理具有不同的耐受性。
- 病毒的耐受性与特定的处理方式有关，只有在了解病毒生物特性和生产工艺特定情况下才能使用这些病毒，而且实际结果会随着处理情况的变化而变化。
- 目前国内尚无朊蛋白（如疯牛病因子）的指示病毒/因子，而且未开展专门针对朊蛋白的灭活工艺验证工作。



■ 如何进行病毒去除/灭活工艺有效性验证

- 效果的判定

- 原则上病毒降低量 ($\log_{10}$) ≥ 4 logs表示该工艺步骤是有效的去除/灭活步骤。
- 一般降低的总量是各步降低病毒量的总和。(可能会高估工艺实际能达到的效能)

建议 $R_n = R_1 + R_2 + \dots \geq 6 \text{ logs}$ (除非导致医疗器械产生不可接受的性能改变)

- 如果生产工艺中包含了两步或两步以上病毒去除/灭活步骤, 需要分别进行效果验证。
- 由于病毒验证的局限性, 如分步骤中病毒降低量 $\leq 1 \text{ log}$ 则不需将其计算在总量中。
- 如因检测方法造成一个病毒去除/灭活步骤的病毒降低量 $< 4 \text{ logs}$ 时, 需盲传三代, 如无病毒检出, 才可认定该工艺步骤是有效的去除/灭活病毒工艺。



■ 如何进行病毒去除/灭活工艺有效性验证

- 病毒去除/灭活动力学

- 评价验证结果不能仅考虑病毒降低量，同时也要考虑病毒灭活动力学。
- 需以作图的形式报告灭活动力学验证结果。
- 如果病毒残留量很快降到最低检出限度值，则说明此方法灭活病毒效果较好；如果病毒灭活速率缓慢，在灭活结束时才达到最低检出限度值，则不能认为是一个有效的病毒灭活方法。



■ 如何进行病毒去除/灭活工艺有效性验证

- 关于朊蛋白

- 目前尚难以采用朊蛋白（如传播性海绵状脑病因子）的指示因子对去除朊蛋白的工艺进行验证。
- 对牛、羊源性材料制品的传播性海绵状脑病安全性还主要是对源头进行控制以及基本的病毒灭活工艺验证。
- 国食药监械[2006]407号: 关于含有牛、羊源性材料医疗器械注册有关事宜的公告
- 随着对朊蛋白研究水平的不断提高，相应的要求也将随时调整。



- 参考：国际上关于病毒去除/灭活的要求
 - ICH指导原则
 - **ICH Q5A—VIRAL SAFETY EVALUATION OF BIOTECHNOLOGY PRODUCTS DERIVED FROM CELL LINES OF HUMAN OR ANIMAL ORIGIN , 1999**

Calculation of Estimated Particles per Dose

This is applicable to those viruses for which an estimate of starting numbers can be made, such as endogenous retroviruses.

Example:

I. Assumptions

Measured or estimated concentration of virus in cell culture harvest = $10^6/\text{ml}$

Calculated viral clearance factor = $>10^{15}$

Volume of culture harvest needed to make a dose of product = 1 litre (10^3ml)



- 参考：国际上关于病毒去除/灭活的要求
 - ICH指导原则
 - **ICH Q5A—VIRAL SAFETY EVALUATION OF BIOTECHNOLOGY PRODUCTS DERIVED FROM CELL LINES OF HUMAN OR ANIMAL ORIGIN , 1999**

II. Calculation of Estimated Particles/Dose

$$\frac{(10^6 \text{ virus units/ml}) \times (10^3 \text{ ml/dose})}{\text{Clearance factor} > 10^{15}}$$

$$= \frac{10^9 \text{ particles/dose}}{\text{Clearance factor} > 10^{15}}$$

$$= < 10^{-6} \text{ particles/dose}$$

Therefore, less than one particle per million doses would be expected.



■ 参考：国际上关于病毒去除/灭活的要求

- ISO 22442-2007 (YY/T 0771-2009)

- 制造商应在残留风险和与现有替代方法相比较的预期医学利益的平衡情况下，对动物材料的使用（包括动物种类和组织的选择）进行论证。
- 实施风险控制时，应分别对待各种病毒和TSE因子相关的风险。在产品定型后，医疗器械制造商应遵循ISO22442-2和ISO22442-3的相关要求，除非采用动物的种属是无法满足ISO22442-2的要求或根据ISO22442-3规定的灭活过程会引起不可接受的降解。
- 对于采用ISO22442-1附录C加工过程的动物脂油衍生物、动物炭和氨基酸，无需考虑其来源，TSE风险和病毒风险均可接受。
- 如果动物种属无法满足ISO22442-2的要求，则制造商应按照ISO22442-3证明传染性病原体灭活的水平，从而使风险可接受。



- 参考：国际上关于病毒去除/灭活的要求
 - 美国FDA的要求
 - 硬脑膜补片指导原则：总的灭活因子 $\geq 6 \text{ logs}$

Guidance Document for Dura Substitute Devices; Guidance for Industry

Document issued on: November 9, 2000

This document supersedes “Guidance Document for Dura Substitute Devices” dated 8/13/99.



- 参考：国际上关于病毒去除/灭活的要求
 - 美国FDA的要求

In general, a SAL of 10^{-6} is important for dura substitutes, unless there is scientific justification for not being able to achieve this level and that it does not create a safety concern. The processing methods and sterilization techniques should be demonstrated to be sufficient to reduce the amount of virus in the final product by at least 10^6 fold. Such data can be obtained by determining the viral inactivation properties of scaled down versions of specific production techniques and sterilization methods using appropriate model viruses.

Review of the International Conference on Harmonisation's "Q5A Viral Safety Evaluation of Biotechnology Products from Cell Lines of Human or Animal Origin" is recommended with regard to the design of such studies and the selection of model viruses. The final results of these studies should demonstrate that the sum of the log clearance of virus from the selected process steps and sterilization processes are at least six logs greater than the concentration of virus anticipated in the unprocessed source material.



- 参考：国际上关于病毒去除/灭活的要求

- 美国FDA的要求

- 1998年的动物源医疗器械指导原则（现行版本）：主要针对BSE

Guidance for FDA Reviewers and Industry

**Medical Devices Containing Materials Derived
from Animal Sources (Except for In Vitro
Diagnostic Devices)**

Document Issued on: November 6, 1998



- 参考：国际上关于病毒去除/灭活的要求
 - 美国FDA的要求
 - 2014年的动物源医疗器械指导原则（草案）

**Medical Devices Containing
Materials Derived from Animal
Sources (Except for *In Vitro*
Diagnostic Devices)**

**Draft Guidance for Industry and
Food and Drug Administration Staff**

DRAFT GUIDANCE

This guidance document is being distributed for comment purposes only.
Document issued on January 23, 2014.



■ 参考：国际上关于病毒去除/灭活的要求

- 美国FDA的要求

- 2014年的动物源医疗器械指导原则（草案）

▲ 总的灭活因子 $\geq 6 \log s$

The results of your viral inactivation studies should demonstrate that the sum of the log clearance of virus from the selected processing steps and sterilization processes are at least six logs greater than the concentration of virus anticipated in the unprocessed source material. While the design of viral clearance studies should take the specific product and manufacturing methods into consideration, insight into the general design of such studies is possible via review of the referenced guidance documents.^{9,10} Viral inactivation studies do not address reduction of possible prion contamination.



■ 参考：我国生物制品关于病毒去除/灭活的要求

- 生物组织提取制品和真核细胞表达制品的病毒安全性评价技术审评一般原则 2005

- 一般将病毒感染性滴度减少 $\geq 4\log$ 的处理步骤认可为有效的病毒去除/灭活工艺步骤。
- 如果病毒逃逸了第一个灭活步骤，则在随后的步骤中可能会增加抵抗力。
- 如果病毒逃逸的原因是由于形成了聚集颗粒，则在后续步骤中，很可能对许多理化处理因素或者加热过程不再敏感。
- 在去除/灭活研究中应设立合理的取样时间，通过在不同的适宜时间多次取样，绘制出病毒去除/灭活过程的动态变化图。选择的取样点应包括能够完全去除/灭活病毒的最小处理时间点以及在最小处理时间点以外的其它代表性时间点。



■ 参考：我国生物制品关于病毒去除/灭活的要求

- 血液制品去除/灭活病毒技术方法及验证指导原则 （国药监注[2002]160号）

- 病毒降低量（ $\log_{10}$ ） ≥ 4 logs，表示该步骤去除/灭活病毒有效。如因检测方法造成病毒降低量 < 4 logs时，应盲传三代，如无病毒检出，可认定是有效的灭活病毒方法。
- 如果病毒灭活速率随时间明显降低，表示该方法可能无效，或者残留的指示病毒对该灭活方法有抵抗力，说明该步病毒灭活方法无效。



■ 参考：我国生物制品关于病毒去除/灭活的要求

- 血液制品去除/灭活病毒技术方法及验证指导原则 （国药监注

[2002]160号)

- 采用模拟生产工艺（缩小的工艺）的方法，需尽可能模拟真实生产过程，按照能代表去除和/或灭活病毒能力最差情况的条件进行设计。
- 需分析生产工艺中各种参数的偏差对病毒灭活效果的影响。



免疫原性风险



- 风险识别——免疫原性风险来自哪里？
 - 动物源及同种异体产品中的免疫原（抗原）类型
 - 蛋白质
 - 多糖
 - 核酸
 - 脂类
 - 可以与蛋白质结合的小分子物质（半抗原）



■ 免疫原性风险有哪些表现形式

- 免疫反应（免疫应答）类型

- 刺激/急性炎症
- 慢性炎症
- 免疫抑制
- 免疫刺激
- 超敏反应
- 自身免疫



■ 免疫原性风险有哪些表现形式

- 在动物源性医疗器械中的具体表现

- 生物瓣——钙化失效
- 胶原类可吸收材料——引发炎症，不能完全吸收
- 生物敷料——过早脱落
- 带活细胞产品——致肿瘤
- 面部植入剂——过敏，肉芽肿
- 骨填充材料——引发炎症，影响骨愈合
-



■ 免疫原性风险如何降低

- 降低免疫原性的方法

- 去除抗原物质（分子）
- 将大分子分解成小分子
- 消除抗原表位（基团）
- 隐藏抗原表位（改变分子的空间结构）

- 与降低免疫原性相关的生产工艺（举例）

- 交联（固定）：戊二醛、甲醛、乙醛
- 脱细胞：酶消化——细胞脱落
- 去蛋白：酶消化
- 胶原蛋白提纯：色谱柱
- 使蛋白质变性：高温、化学试剂



■ 免疫原性风险相关的质量控制

- 免疫原性质量控制的必要性

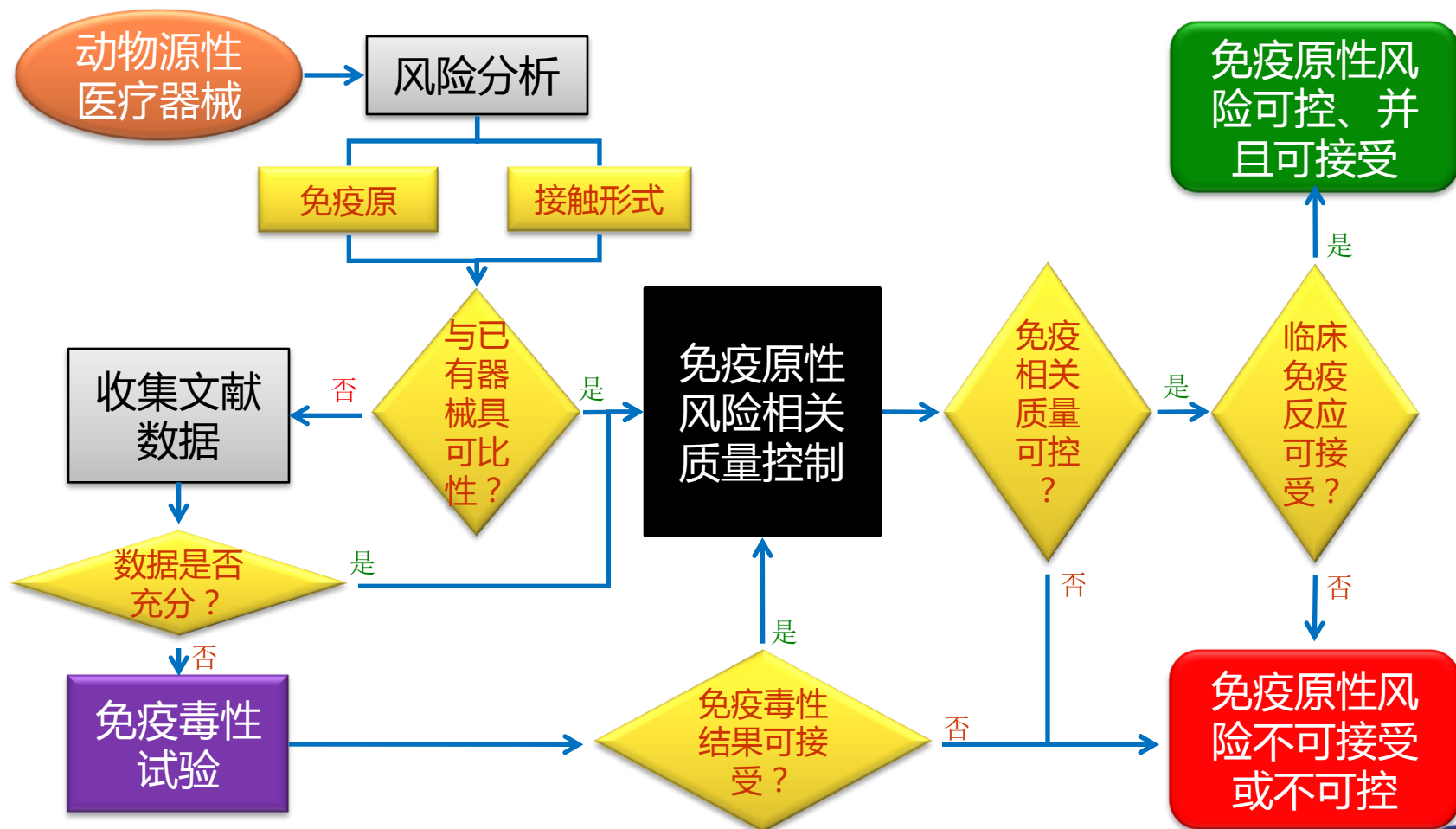
- 免疫原性评价——保证产品在设计上免疫原性风险可接受。
- 免疫原性质量控制——保证上市的每批产品免疫原性风险可接受。

- 医疗器械免疫原性质量控制的方法（举例）

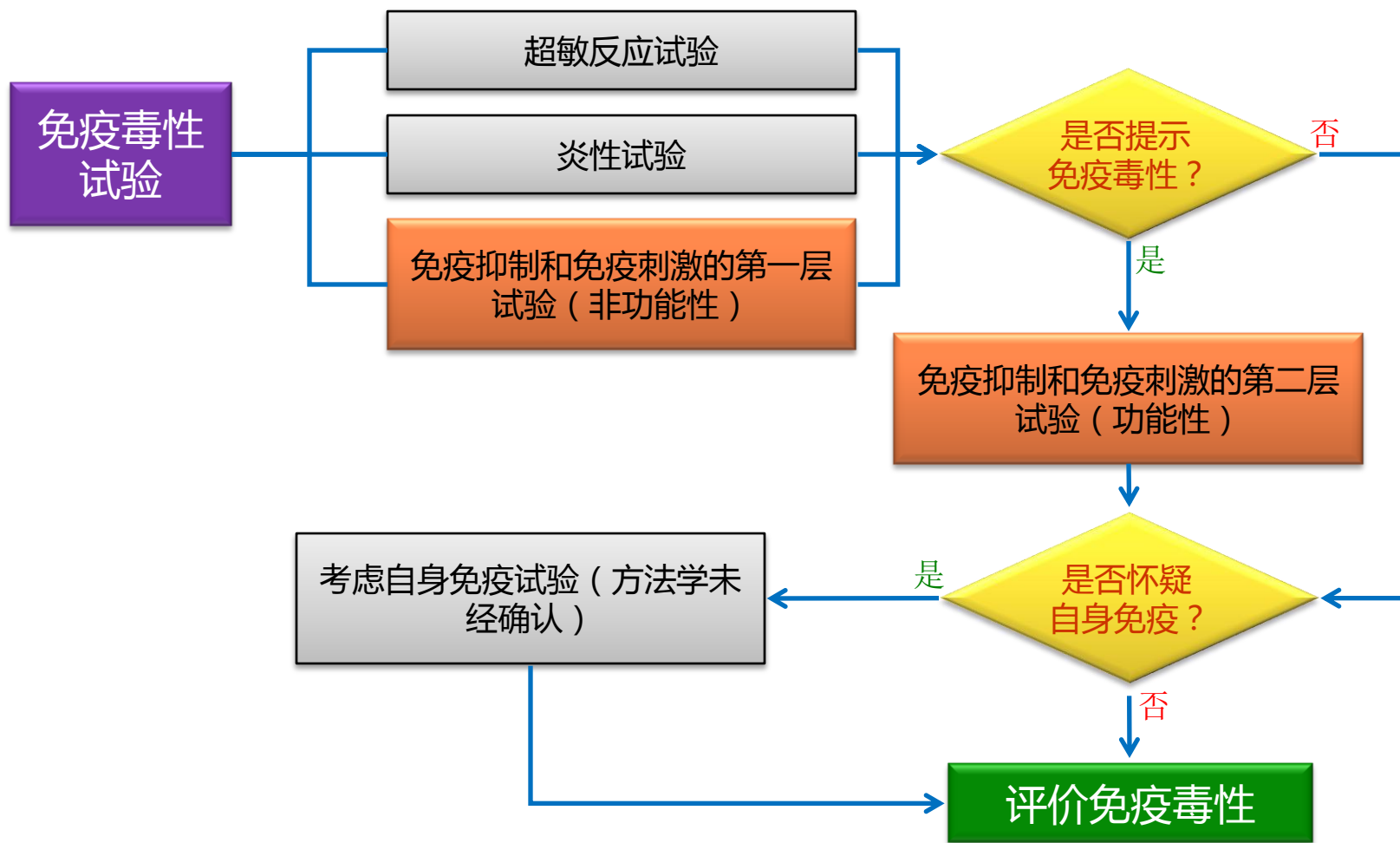
- 脱细胞产品：控制残留细胞个数、残留DNA、残留 α -Gal 抗原表位（适用时）
- 胶原：I型胶原纯度、杂蛋白含量
- 透明质酸钠、壳聚糖：蛋白质含量
- 交联材料：交联程度指标



免疫原性风险的评价与质量控制



免疫毒性试验框架 (ISO 10993-20)



■ 参考：关于 α -Gal（ α -半乳糖）抗原

- 特点

- 是一组糖蛋白或糖脂类物质（如鞘糖脂、层粘连蛋白等都含有 α -Gal 抗原）
- 存在于非灵长类哺乳动物体内，不同动物分布不同（如猪的血管、骨、软骨、角膜基质等均有表达）。
- 在人类体内不表达。

- 风险

- 人体天然存在抗 α -Gal 抗体（含量最多的一种抗体）。
- 目前研究认为，在异种移植中，移植物的 α -Gal 抗原和人体本身的抗体发生反应，可导致超急性免疫排斥和慢性免疫排斥，从而造成移植失败。



■ 参考：关于 α -Gal（ α -半乳糖）抗原

- 问题

- 使用常规的野生型动物不能充分地评价 α -Gal 抗原残留可能给人体带来的免疫排斥反应风险。

- 解决办法

- 动物源材料中 α -Gal 抗原的检测（相关检测方法的行业标准已发布）
 - ✦ 竞争酶联免疫吸附法（ELISA）
 - ✦ 免疫组织化学法
- 用 α -Gal 抗原缺失的动物模型进行免疫毒性试验
 - ✦ α -Gal 抗原缺失小鼠



■ 参考：国际上关于免疫毒性的要求

- **ICH S8** Immunotoxicity Studies for Human Pharmaceuticals
 - 先进行文献评估，需要时再进行初步试验。当初步试验提示有显著性改变，再进行更进一步的试验。
- **ISO/TS 10993-20:2006** Biological evaluation of medical devices –Part 20: Principles and methods for immunotoxicology testing of medical devices
 - 先进行文献评估，需要时再进行非功能性试验。当非功能性试验提示有免疫毒性，再进行功能性试验。
- **FDA Guidance for Industry** Nonclinical Safety Studies for the Conduct of Human Clinical Trials and Marketing Authorization for Pharmaceuticals
 - 同 ICH S8要求
 - 如果需要进行免疫毒性试验，应在III期临床试验之前完成。



谢 谢 ！

Thanks for your attention !



医课汇
公众号
专业医疗器械资讯平台
WECHAT OF
HLONGMED



hlongmed.com
医疗器械咨询服务
MEDICAL DEVICE
CONSULTING
SERVICES



医课培训平台
医疗器械任职培训
WEB TRAINING
CENTER



医械宝
医疗器械知识平台
KNOWLEDG
ECENTEROF
MEDICAL DEVICE



MDCPP.COM
医械云专业平台
KNOWLEDG
ECENTEROF MEDICAL
DEVICE

