ICS 11.100.20
CCS C 30

中华人民共和国国家标准

GB/T 16886.6—2022/ISO 10993-6:2016
代替 GB/T 16886.6—2015

医疗器械生物学评价
第6部分:植入后局部反应试验

Biological evaluation of medical devices—
Part 6: Tests for local effects after implantation

(ISO 10993-6:2016, IDT)

2022-04-15 发布　　2023-05-01 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会　发布

目　次

前言 …… Ⅲ
引言 …… Ⅳ
1　范围 …… 1
2　规范性引用文件 …… 1
3　术语和定义 …… 2
4　植入试验方法通则 …… 2
5　试验方法的基本要求 …… 3
6　试验报告 …… 7
附录 A（规范性）　皮下组织植入试验方法 …… 9
附录 B（规范性）　肌肉植入试验方法 …… 11
附录 C（规范性）　骨植入试验方法 …… 13
附录 D（规范性）　脑组织植入试验方法 …… 15
附录 E（资料性）　植入后局部生物学反应评价示例 …… 19
参考文献 …… 22

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。

本文件是 GB/T 16886《医疗器械生物学评价》的第 6 部分。GB/T 16886 已经发布了以下部分:

——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:潜在降解产物的定性和定量框架;

——第 10 部分:刺激与皮肤致敏试验;

——第 11 部分:全身毒性试验;

——第 12 部分:样品制备与参照材料;

——第 13 部分:聚合物医疗器械降解产物的定性和定量;

——第 14 部分:陶瓷降解产物的定性与定量;

——第 15 部分:金属与合金降解产物的定性与定量;

——第 16 部分:降解产物与可沥滤物毒代动力学研究设计;

——第 17 部分:可沥滤物允许限量的建立;

——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。

本文件代替 GB/T 16886.6—2015《医疗器械生物学评价　第 6 部分:植入后局部反应试验》,与 GB/T 16886.6—2015 相比,除编辑性改动外,主要技术变化如下:

a)　增加了有关可吸收医疗器械生物学评价的指导(见 5.1.2、5.3.3、5.3.4、6.6);

b)　增加了“脑组织植入试验方法”(见附录 D)。

本文件等同采用 ISO 10993-6:2016《医疗器械生物学评价　第 6 部分:植入后局部反应试验》。

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。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件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。

本文件起草单位:山东省医疗器械产品质量检验中心、山东大学。

本文件主要起草人:刘佳、孙立魁、刘尚明、朱福余、刘兆华、于洋。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为:

——1997 年首次发布为 GB/T 16886.6—1997,2015 年第一次修订;

——本次为第二次修订。

引　言

《医疗器械生物学评价》拟由二十一个部分构成：

——第 1 部分：风险管理过程中的评价与试验。目的是保护人类由于使用医疗器械所产生的潜在生物学风险，在风险管理过程中描述医疗器械生物学评价，并将其作为医疗器械总体评价和开发过程的一个组成部分。

——第 2 部分：动物福利要求。目的在于最大限度利用科学合理的非动物试验，确保用于评价医疗器械所用材料的生物学性能动物试验符合认可的伦理和科学原则。

——第 3 部分：遗传毒性、致癌性和生殖毒性试验。目的是为已确定具有潜在的遗传毒性、致癌性或生殖毒性的医疗器械提供评价指南和方法。

——第 4 部分：与血液相互作用试验选择。目的是为医疗器械与血液相互作用评价提供通用要求。

——第 5 部分：体外细胞毒性试验。目的是为评估医疗器械体外细胞毒性提供试验方法。

——第 6 部分：植入后局部反应试验。目的是为评估医疗器械所用生物材料植入后局部反应提供试验方法。

——第 7 部分：环氧乙烷灭菌残留量。目的是为经环氧乙烷(EO)灭菌的单件医疗器械上 EO 及 2-氯乙醇(ECH)残留物的允许限量、EO 及 ECH 提供检测步骤以及确定器械是否可以出厂提供检测方法。

——第 9 部分：潜在降解产物定性和定量框架。目的是为系统评价医疗器械潜在的和已观察到的生物降解以及生物降解研究的设计与实施提供基本原则。

——第 10 部分：刺激与皮肤致敏试验。目的是为医疗器械及其组成材料潜在刺激和皮肤致敏提供评价步骤。

——第 11 部分：全身毒性试验。目的是为评价医疗器械材料导致潜在不良全身反应时提供试验步骤指南。

——第 12 部分：样品制备与参照材料。目的是为医疗器械生物学评价中样品制备方法和参照材料提供选择指南。

——第 13 部分：聚合物医疗器械降解产物的定性和定量。目的是为用于临床的成品聚合物医疗器械模拟环境的降解产物定性与定量试验设计提供通用要求。

——第 14 部分：陶瓷降解产物的定性与定量。目的是为从陶瓷材料获取降解产物定量用的溶液提供方法。

——第 15 部分：金属与合金降解产物的定性与定量。目的是为金属医疗器械或可供临床使用的相应材料样品的降解产物提供定性与定量试验设计的通用要求。

——第 16 部分：降解产物与可沥滤物毒代动力学研究设计。目的是为提供与医疗器械相关的设计和实施毒代动力学研究的原则。

——第 17 部分：可沥滤物允许限量的建立。目的是为医疗器械可沥滤物允许限量的建立提供方法。

——第 18 部分：材料化学表征。目的是为医疗器械成分的定性和定量(必要时)以识别生物危险以及估计和控制材料成分中的生物学风险提供框架。

——第 19 部分：材料物理化学、形态学和表面特性表征。目的是为识别与评价最终医疗器械材料的物理特性，如物理化学、形态学和表面特性(PMT)的各种参数和试验方法。

——第 20 部分：医疗器械免疫毒理学试验原则和方法。目的是为医疗器械潜在免疫毒性方面提供免疫毒理学综述以及为检验不同类型医疗器械的免疫毒性提供方法指南。

——第 22 部分：纳米材料指南。目的是为包含、产生或由纳米材料组成的医疗器械生物学评价提供指南。

——第 23 部分：刺激试验。目的是为医疗器械及其组成材料潜在刺激提供评价步骤。

医疗器械生物学评价
第6部分:植入后局部反应试验

1 范围

本文件规定了用于评估医疗器械所用生物材料植入后局部反应的试验方法。

本文件适用于下列材料:

——固形和非固形材料,如多孔材料、液体、胶状、膏状和颗粒材料,

——非吸收性材料,和

——可降解和/或可吸收性固形或非固形材料。

本文件也适用于评价临床上预期用于局部损伤表面或损伤内表面的医疗器械产生的局部组织反应。

注1:将试验样品植入适宜种属的动物和部位以评价材料的生物学安全性,其目的为表征医疗器械/生物材料植入后组织反应的进程和演变,包括材料最终的组织整合或吸收/降解,尤其对可降解/可吸收性材料,确定材料的降解特性以及所产生的组织反应。通过比较试验样品与已确立临床可接受性和生物相容性的医疗器械所用对照材料产生的组织反应,对局部反应进行评价。

本文件不适用于预期评价或测定试验样品在机械或功能负荷方面的性能的植入试验。

本文件不涉及全身毒性、致癌性、致畸性或致突变性。

注2:用来评价局部生物学反应的长期植入研究可能提供全身毒性、致癌性、致畸性或致突变性方面的一些信息。通过植入进行的全身毒性研究可能满足本文件的要求。当进行联合研究来评价局部反应和全身反应时,两个文件的要求都要满足。

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。

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)

注:GB/T 16886.1—2022 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(ISO 10993-1:2018,IDT)。

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)

注: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)。

ISO 10993-4 医疗器械生物学评价 第4部分:与血液相互作用试验选择(Biological evaluation of medical devices—Part 4:Selection of tests for interactions with blood)

注:GB/T 16886.4—2022 医疗器械生物学评价 第4部分:与血液相互作用试验选择(ISO 10993-4:2017,IDT)。

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

注:GB/T 16886.12—2017 医疗器械生物学评价 第12部分:样品制备与参照材料(ISO 10993-12:2012,IDT)。

ISO 10993-16 医疗器械生物学评价 第16部分:降解产物与可沥滤物毒代动力学研究设计(Biological evaluation of medical devices—Part 16: Toxicokinetic study design for degradation products and leachables)

注:GB/T 16886.16—2021 医疗器械生物学评价 第16部分:降解产物与可沥滤物毒代动力学研究设计(ISO 10993-16:2017,IDT)。

3 术语和定义

ISO 10993-1、ISO 10993-2、ISO 10993-12和ISO 10993-16界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

吸收/吸收性 absorb/absorption

某一非内源性(外部的)材料或物质,或其分解产物逐步通过细胞和/或组织或被细胞和/或组织同化的作用。

3.2

降解 degradation

材料的分解。

[来源:ISO 10993-9:2009,3.1]

3.3

降解产物 degradation product

某一材料或物质由于物理、代谢和/或化学分解而产生的所有中间或最终副产物。

[来源:ISO/TR 37137:2014,2.2,有修改]

3.4

(使)降解 degrade

将某一材料或物质通过物理、代谢和/或化学途径进行分解。

[来源:ISO/TR 37137:2014,2.3]

3.5

生物材料 biomaterial

预期与生物系统相互作用的材料或物质,用于评价、治疗、填充或替代任何人体组织、器官或功能。

[来源:欧洲学会生物材料会议Ⅱ]

4 植入试验方法通则

4.1 总则

充分详细地设计试验方案非常重要,这样能从所用的每只动物和每项研究中获得全部相关信息(见ISO 10993-2、ISO 10993-11和ISO 10993-16)。

所有的动物研究均应在经国家认可机构认可的实验室内进行,并应遵守与实验动物福利有关的全部适用法规,以符合ISO 10993-2的要求,这些研究应在良好实验室质量管理规范或其他经批准的质量保证体系的控制下进行。

附录A、附录B、附录C和附录D中规定的试验方法均应采用本章的规定。

4.2 植入样品的制备

4.2.1 应按照ISO 10993-12制备试验样品和参照或对照材料。植入样品的尺寸和形状应形成文件并进行论证。附录A、附录B、附录C和附录D中给出了各种植入部位的试验样品。物理特性(例如形

态、密度、硬度、表面)可能影响试验材料组织反应的性质,因此应予以记录并在表征组织反应时考虑这些因素。对照材料宜与试验样品具有尽可能相近的物理特性。

4.2.2 应根据最终产品预期所用方法对每个植入样品进行加工、处理、清洗污染物和灭菌,并应在研究文件中进行确认。植入样品在最终制备和灭菌后,应进行无菌操作,以保证植入样品在植入前和植入时不会以任何方式被损坏或污染。

4.2.3 对于用于组织工程医疗产品的支架材料,可能不宜使用预先装有细胞和/或蛋白质的最终产品,因为动物对这种产品细胞/蛋白质成分产生的免疫反应,以及细胞对动物产生的反应可能会干扰局部组织反应,造成结果难以解释。

4.2.4 对于复合材料(如骨水泥、牙科材料),在使用之前可能要混合组分,并在植入前进行固化。设计为在放置前固化的多组分材料,可在使用前进行组分混合并在植入前进行固化。但设计用于原位聚合的材料(例如骨水泥、许多牙科材料),应以在原位聚合的方式予以植入。应对所使用的步骤形成文件并进行论证。

4.2.5 非固形材料(包括粉剂)可装在两端开口的圆柱形管内用于植入后局部反应试验(见 ISO 10993-12 中给出的管材选择)。按照制造商的使用说明书制备试验材料,将材料装入管内直至与端口平齐,谨慎操作防止试验材料污染管的外表面;如出现污染不应植入样品。避免空气进入管内,并确保装入管内的材料端口面和管的端口均光滑。

聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)或聚四氟乙烯(PTFE)管常用于本试验。PE 管经高压蒸汽处理可能会变形。

4.2.6 应通过与已确立临床可接受性和生物相容性的类似样品/材料的组织反应进行比较来进行评价。

注:详细指南见 ISO 10993-12。

4.2.7 对照品的物理特性如形状,特别是表面状况,如实际可行应与植入试验样品相似,任何差异都应说明并论证。如试验材料装入管内,对照品应是与管相同的材料,直径与管的外径相同。对照棒材或管的选择应形成文件并论证。

4.2.8 对于植入研究,应对试验和对照样品的数量或尺寸形成文件记录。

4.3 研究设计

对于包含两种或多种不同材料/由两种或多种不同材料组成的器械,试验样品宜具有相似组分或可能需要多个植入物,例如,如果某一器械由高密度聚乙烯(HDPE)和钛组成,那么试验样品宜由 HDPE 和钛组成。

5 试验方法的基本要求

5.1 组织与植入部位

5.1.1 试验样品应植入与材料预期临床应用最相关的组织,对样品数量、组织和植入部位的选择理由应形成文件。附录 A、附录 B、附录 C 和附录 D 给出了各种植入部位的试验方法。如选择其他植入部位,仍应遵循附录 A、附录 B、附录 C 和附录 D 给出试验方法的基本科学原理,并进行论证。

注:对于某些器械,具有给出特定植入研究的产品标准来评价局部组织反应,例如,人工晶状体植入物和牙科应用试验。这些研究可用于满足本文件的要求。

5.1.2 对于可吸收性材料,应采用一种适当的方式标记植入部位,用于在特定的时间段结束时识别该部位。推荐仅在间隔较短的研究中使用非侵入持久性的皮肤标记和/或模板标记样品植入位置。在大多数情况下,可采用适宜的非吸收性阴性对照(例如,HDPE 1 mm×2 mm×5 mm,PP 缝合线、金线、夹)组成的位置标记物来标记植入位置。这些位置标志物可以在组织学处理之前,在不影响试验样品-

组织接触面的情况下被移除。

特殊情况下，可采用假手术步骤来评价手术步骤对有关组织的影响；这种情况应提供具体的论证。

5.2 动物

5.2.1 动物管理和饲养应完全执行 ISO 10993-2。一般情况下首选小型实验动物，比如小鼠、大鼠、仓鼠或兔。

5.2.2 基于研究中针对具体生物材料的特殊科学考虑，可论证使用较大型动物，或者如果需要调整植入物尺寸，以进行完整器械试验。

5.2.3 动物种属的选择符合 ISO 10993-2 规定的原则，适当考虑植入试验样品的尺寸、每只动物植入物的数量、根据动物预期寿命确定的试验周期，以及动物种属可能存在的生物学反应差异性。

5.2.4 对于短期试验，通常使用啮齿类动物或兔。对于长期试验，适宜使用啮齿动物、兔、犬、绵羊、山羊、猪及平均寿命相对较长的其他动物。

5.2.5 在开始可降解材料的动物研究之前，宜考虑体外降解研究的相关信息。对于可吸收性材料，在开展较大型动物研究之前，宜先采用啮齿动物进行预试验，以测定材料的预期降解率。

5.2.6 应在同样条件下将试验和对照材料样品植入相同年龄、性别和品系的同一种属动物的对应解剖部位，根据动物种属体型大小和解剖位置情况，确定植入物的数量和尺寸。在可能的情况下，参照/对照样品和试验样品宜植入同一只动物。

5.2.7 然而，当进行神经植入研究（见附录 D），或植入后局部反应是作为通过植入进行全身毒性试验的一部分而被研究时，则不应将对照样品和试验样品植入同一只动物。

5.3 试验周期

5.3.1 应根据临床可能接触时间，或是持续至相应生物学反应达到或超过某一稳定状态的时间，来确定试验周期。所选择的时间点应进行说明和论证。

5.3.2 对于非吸收性材料，短期反应评估一般为 1 周至 4 周，长期反应评估则一般超过 12 周。植入材料的局部生物学反应与材料特性和手术创伤反应有关，术后植入物周围组织结构的改变随时间而变化。植入后的最初 2 周，可能很难将外科手术所致的反应与植入物引起的组织反应区分开来。在肌肉和结缔组织中，植入后 9 周至 12 周时细胞群呈稳定状态，这取决于动物种属和手术创伤的严重程度。在骨组织中，则可能需要较长的观察期才能达到稳定状态。

5.3.3 对于可吸收性材料，试验周期应与试验产品在临床相关植入部位估计的降解时间相关。确定样品评价时间点时，应估算降解时间。这可以通过体外实时或加速降解试验来实现，也可以在某些情况下通过数学模型方法来实现。一般情况下，研究周期宜涵盖或超过材料的完全吸收终点。可吸收性材料的评价周期将部分依赖于材料的降解速率。研究间隔宜跨越植入物降解时间框架的重要部分，并应至少包括下列时间点：

a) 早期时间框架（无或微量降解）——对于可吸收性材料，通常宜使用植入后 1 周和 2 周之间的一个时间点来评估早期组织反应。

b) 中期时间框架（发生降解时）——宜根据特定可吸收性材料的降解特性来指导选择可吸收器械的后续的研究时间间隔。目标时间间隔宜允许评估预期最明显的组织学反应（例如，最有可能发生实质性结构紊乱和/或器械碎裂）。降解时间较长的植入物可能需要多个评估时间点，并根据预期的降解模式确定目标间隔。

c) 当植入含有不同吸收速率的复合材料时，植入时间间隔宜包含反映这些组分降解特征的时间间隔。

d) 末期时间框架（当植入物基本被吸收时）——该时间间隔是为了在可吸收性组分在植入部位有微量残余时进行观察。

植入物完全吸收后的大体和显微学评价非常重要。然而，在没有完全吸收情况下，如果满足以下条件，则收集到的全部资料宜足以表征植入后的局部反应：

——受影响组织的反应、结构和功能已经达到了一个可接受的稳定状态，和

——可吸收性材料和/或其降解产物处于一种肉眼难以发现的状态。

注：体内降解可能持续很长一段时间，有时会超过一年。如果植入物在预期研究周期内没有被完全吸收并且无法通过显微镜观察，那么通过增加动物以延长观察周期（设置“待检测”组时间点）可能很有帮助。

在末期时间框架内材料未被完全吸收的情况下，宜提供一份终止该研究的适宜的科学论证报告，并估计剩余可吸收性材料的百分比（%）。

推荐开展跨越植入物重要降解时间框架的长期研究。可在根据具体情况考虑体外预降解材料植入法（如超过50%质量损失或50%机械强度损失），以更加快速地观察植入后的末期事件。但是，这种研究不能替代表征可吸收器械体内实时降解特征的植入研究。

5.3.4 在可吸收性材料与下列情况联合应用时，表征这种可吸收性器械降解过程的方法不适用于评价其局部反应：作为药物缓释载体、组织工程医疗产品的支架、或非吸收性植入物的表面涂层。因为与药物和/或细胞的联合应用的组合器械可引发新问题，所以宜向适宜的监管部门咨询可吸收性组合产品的研究设计方法。

5.3.5 虽然本文件没有涉及ISO 10993-11中给出的全身毒性问题，但推荐从采用植入方式进行的任何全身毒性研究中获取符合本文件要求的信息。

5.3.6 对于长期研究，表1中给出了非吸收性生物材料普遍可接受的观察周期。宜按照ISO 10993-2在每一时间点人道处死动物。特殊情况下，采用全身麻醉且伴有恢复期的连续取样是可以接受的，应形成文件并进行论证。

表1 生物材料长期植入可接受的试验周期

动物种属	植入周期/周[a]				
	13	26	52	78	104
小鼠	X	X	X	—	—
大鼠	X	X	X	—	—
豚鼠	X	X	X	—	—
兔	X	X	X	X	X
犬	X	X	X	X	X
绵羊	X	X	X	X	X
山羊	X	X	X	X	X
猪	X	X	X	X	X

注：“X”表示不同动物种属可接受的试验周期，“—”表示不适用。

[a] 这些是常用的植入周期；但是，根据试验材料的具体特征可能有其他的适用周期。根据试验材料预期临床使用情况而定，并非所有的植入周期都是必需的。

5.4 手术和试验条件

5.4.1 手术应在常规麻醉条件下进行，如采用其他麻醉形式应进行论证，并应符合ISO 10993-2。附录A、附录B、附录C和附录D分别描述了皮下、肌肉、骨或神经植入的具体插入或植入步骤。

5.4.2 附录A、附录B、附录C和附录D中描述了每只动物的植入数量和每一观察期的动物数量。应

植入足够数量的试验和对照植入物，以确保最终用于评价的样品数量能得出有效结果。

5.4.3 外科手术技巧对各种植入步骤的结果均可产生极大的影响，应在无菌条件下进行手术，并采用使植入部位最小创伤的方法。用剪、刮或其他机械方式除去手术区域毛发，再用适宜的消毒剂消毒暴露的皮肤部位，确保植入物或伤口表面不接触毛发。术后可采用缝合线或伤口夹闭合伤口，采用预防措施保持无菌状态。宜对抗生素的使用进行论证。

5.4.4 研究期间应定期观察并记录动物的健康状况。术后应在适宜的间隔期观察试验中的每只动物，应记录任何异常迹象，包括局部、全身和行为的异常，并在试验报告中描述对结果的潜在影响。

5.4.5 宜在适当的间隔期测量体重。术后镇痛剂的使用应符合 ISO 10993-2 的要求。

5.4.6 在试验周期结束时，采用过量麻醉剂或符合 ISO 10993-2 原则的其他可接受的人道方法安乐术处死动物。

5.5 评价

5.5.1 总则

通过记录不同时间点观察到的肉眼和组织病理学反应来评价生物学反应。将试验样品、对照样品或假手术部位的反应进行比较。

注：附录 E 和参考文献中分别给出了分级系统示例。

在相对于每个植入物的等效位置进行对照和试验植入物的比较，这样可将组织与植入物之间相对运动造成的影响降至最低。

圆柱形样品的评价区域为其两端之间的中部。对于带沟槽的圆柱形植入物，适于评价区域为凹槽的中央位置，也可以为植入物的平坦顶端表面。

在每一试验间隔，应对附录 A、附录 B、附录 C 和附录 D 中规定的足够数量的样品进行评价，这些样品应至少取自 3 只不同的动物。

在特殊情况下，当用于评价的初始植入部位数量不足，或动物缺失时，参与评价的病理学家可以先确定植入部位的反应是否一致，从而判断能否进行准确的总体评价。

5.5.2 肉眼观察评估

应检查每一植入部位正常组织结构的改变，宜包括局部引流淋巴结的评估。推荐使用低倍放大镜。记录观察到的任何组织反应的性质和程度，比如血肿、水肿、囊腔和/或其他大体发现。记录是否存在植入物，及其形态和位置，包括可降解材料可能的残留物。彩色微距影像可有助于形成文件记录。

除检查植入部位外，当动物表现出不健康症状或对植入物产生反应时，应进行肉眼尸检。

5.5.3 植入物取出和组织样品采集

动物被人道方式处死后，切取植入物及其未受影响的组织，周围组织要足够多(2 mm～5 mm)，以能够进行局部组织病理学反应评价。如候选供试材料在检查部位不明显(可吸收性材料)，可扩大切取部位，将预期植入位置周边几个毫米的正常组织都包括在内。在此阶段，可对包含试验和/或对照材料的植入部位样本进行化学固定。10%的福尔马林溶液适用于大多数材料的化学固定和染色。根据组织样本的大小，固定 24 h 到 72 h 是合理的。进行化学固定后，即可以从植入物囊腔中小心移除坚硬的材料，如金属或致密塑料。囊腔代表植入腔。在石蜡制片中，软性材料可能会被取材、修块，并在组织处理和切片过程中保留在原位。这可能更适用于随时间有组织长入的多孔材料。

对于非降解植入物，宜根据大体病理学情况采集引流淋巴结。对于可降解植入物，在可行的情况下宜采集引流淋巴结，因为对引流淋巴结的评价对证明可降解材料的迁移具有重要意义。

注 1：目前认为不一定能定位所有样品的引流淋巴结。

如有存在健康状况不佳和大体病理学指征，或试验设计用于评价全身毒性，适宜时应采集其他

器官。

按照组织学评价要求，采用适宜的步骤处理切取的组织样品，包括固定、修块、包埋、切片和染色。适宜时记录植入物的植入方位、切片数量、切片厚度和组织块的几何形状。

采用常规技术(石蜡包埋)时，组织包膜在接触固定液之前或之后可能是开放的，这时应报告植入物表面和组织床状况。如果新鲜未固定组织的包膜是开放的，小心操作避免破坏植入物/组织界面。对诸如金属或致密塑料等硬质材料植入物/组织界面处进行研究时，首选硬塑料包埋法来代替石蜡包埋法，该法可将植入物在原位与组织包膜完整包埋在一起。采用适宜的切片或磨片技术制备组织学切片。

当组织或植入物不能采用石蜡切片技术时，可能需要采用其他包埋/切片技术(如塑料包埋)对组织/植入物界面进行评价。如果包埋技术导致组织/植入物界面改变，应观察所有界面情况并形成文件。

注 2：对于软组织内的“软”植入物，进行组织样品处理时，可不用取出植入物。

5.5.4 显微镜评估

组织学评价的记分系统应关注受影响部位的范围，采用定量(以微米计)或半定量(见附录 E)的方法评价。宜记录植入物的植入方位、切片数量和组织块的几何形状。

应评估和记录的生物学反应指标包括：

a) 纤维化/纤维囊腔的病变范围；以微米或半定量表示层厚(见附录 E)和炎症；
b) 由组织形态学改变而确定的变性；
c) 与材料/组织界面的距离有关的炎性细胞类型、数量和分布，即嗜中性粒细胞、淋巴细胞、浆细胞、嗜酸性粒细胞、巨噬细胞和多核细胞；
d) 出现坏死及其范围程度；
e) 其他组织改变，如血管形成、脂肪浸润、肉芽肿形成、矿化和骨形成；
f) 材料参数，如破裂和/或存在碎片、材料降解残留物的形状和位置；
g) 对于多孔和可吸收植入材料，组织长入的数量和质量。

包括任何不良反应的组织学反应应形成文件。显微照片可能有助于形成文件。

对于可降解/可吸收性材料，在试验中期或接近完全降解阶段时，在受检的组织样品内应还存在一些可降解植入物的残留材料。此外，在评价组织是否已修复至正常结构时，应对有代表性的植入部位区域进行评价，该区域可使用标记物或模板来标识。

对于骨内植入物，要特别关注组织与材料之间的界面。评价植入物周围的骨接触面积和骨的数量，以及是否出现非钙化组织。应记录是否出现骨吸收和新骨形成。

对于观察到不良组织病理学结果(如免疫细胞浸润)的情况，除了标准的苏木素-伊红组织病理学评估方法外，推荐采用附加的分析方法。

5.5.5 反应的评价

参考文献[25]和[26]描述了定量记分系统的示例。

半定量记分系统示例见附录 E 和参考文献[17]、[18]和[20]。

此外，参考文献中给出了其他记分系统示例。

6 试验报告

6.1 总则

试验报告应足够详细，以便能够独立的评估结果。当有多种器械材料时，病理学家宜对每一材料单独进行评价和报告。报告应包括 5.1 至 5.5 中所列各项内容，另外还应报告下列项目。

6.2 检验实验室

报告项目如下：

a) 实验室的名称和资质；

b) 试验报告负责人的姓名、签名和报告日期。

6.3 植入样品

报告项目如下：

a) 试验和对照材料描述，比如植入样品的识别、表面情况、形状、尺寸、质量和形态；

b) 应提供对照样品选择的理由和植入材料的物理形态。

6.4 动物和植入

报告项目如下：

a) 应报告动物种属、品系、性别、年龄和/或体重和来源，并进行论证；

b) 应报告试验条件，包括饲养条件和动物饮食；

c) 应记录研究期间的全部动物福利观察结果并形成文件；

d) 应记录并报告每只动物的插入技术，包括手术步骤、麻醉和术后止痛方法、植入物的位置和数量；

e) 应记录与植入和取出有关的问题和研究期间的全部观察结果。

6.5 切取和组织学步骤

报告项目如下：

a) 报告中应包括对切取技术的描述。应记录每只动物每个观察期切取出的植入物数量。

b) 应记录对植入物的评价，包括对植入物、组织和器官的总体观察结果。应描述所采用的固定和组织切片制备技术。

c) 植入部位和尸检中显示改变的任何器官的组织学评价方法和结果。

d) 对于可吸收性材料，报告应包含但不仅限于降解程度的描述，包括材料取出时的特性(游离颗粒、纤维形成、无定形凝胶、结晶度)。如果植入物可以在不损伤植入物/组织界面的情况下被移除，宜考虑增加其他可能的相关观察，例如分子量的变化和质量的损失。

e) 当植入物的最终目的是使组织重建，则评价主要关注植入部位预期形成的正常组织情况，而不关注材料是否完全降解。

6.6 肉眼观察和显微镜评价

报告项目如下：

a) 肉眼观察应包括对每一植入物的观察结果，以及对植入物周围组织的外观情况。适用时，应包括引流淋巴结的观察结果，特别是针对可吸收性材料。

b) 报告应包括从每次组织学评价中得出的结果和适用的(统计学)分析。适用时，应包括引流淋巴结的观察结果，特别是针对可吸收性材料。

6.7 最终评价

报告应包括对试验和对照材料植入后局部生物学反应的比较评价。

附 录 A
（规范性）
皮下组织植入试验方法

A.1 适用范围

本试验方法用于评估皮下组织对植入材料的生物学反应。

本研究可用于比较同种材料不同表面结构或条件的影响，或用于评估材料经各种处理或改性后的影响。

A.2 原则

本试验方法对试验样品植入物与对照样品植入物的生物学反应进行比较。对照材料是已确立临床可接受性和生物相容性的医疗器械所采用的材料。

A.3 试验样品

试验和对照样品的常规制备按 4.2 的规定，植入物尺寸根据实验动物的大小来确定，应考虑采用下列最小规格尺寸。

a) 圆盘状材料应制成直径 10 mm～12 mm、厚度 0.3 mm～1.0 mm 的试验样品。

注：深度达浅筋膜肌层的皮下部位特别适于评价聚合物片状材料，片状材料若植入肌肉内可能会折叠，使得难以评价材料本身所造成的生物学反应。

b) 棒状或圆柱状材料应制成直径 1.5 mm～2 mm、长 5 mm～10 mm、两端圆钝的试验样品。

c) 非固形试验样品（包括粉剂）宜装入直径 1.5 mm、长 5 mm 的管内（见 4.2）。如适宜，可将这些材料直接植入组织。然而，对于可吸收性材料推荐使用一个位置标记物。

d) 当与全身毒性研究合并进行临床相关样品的植入试验时，可以使用与解剖学结构相适应的其他尺寸。

A.4 实验动物和植入部位

植入物应插入成年小鼠、大鼠、豚鼠或兔背部皮下组织内，按照 ISO 10993-2 的规定选择其中的一种动物。

每种材料的每一植入期至少采用 3 只动物和足够的植入部位，总数达到 10 个试验样品和 10 个对照样品。当多个组织样品取自一个植入部位时，组织学切块应至少间距 1 cm。

用于评价一种材料的组织样本应至少取自 3 只动物。非吸收性对照样品应在每一时间点进行评价。如果能提供可接受的科学论证并形成文件，则可接受在单一时间点评价对照材料的反应，并且应对下列情况进行说明：

——对照样品；

——植入周期；

——动物模型；

——研究方案；

——历史对照数据。

A.5 植入步骤

A.5.1 总则

选择 A.5.2 和 A.5.3 步骤中的一种。

A.5.2 背部中线侧植入

做一个皮肤切口，用钝性分离法制备一个或几个皮下囊，囊的底部距皮肤切口应为 10 mm 以上，每个囊内放入一个植入物，植入物之间应不能互相接触。或者可在两肋侧植入。

注：也可采用套管针将植入物推入囊内适宜部位或根据需要制备多个小切口。

A.5.3 颈部植入

采用小鼠时，在骶骨上方切一个 10 mm 长的切口，用钝性分离法向颈部剖开一个皮下通道，穿过通道向颈部推入植入物并加以固定。

采用大鼠时，在颈部两侧分别植入一个对照植入物和试验样品植入物，植入物之间应不能互相接触。或者可在两肋侧和/或后肢植入。

在距植入物一段距离的地方用适宜的缝合线缝合植入通道，以防止植入物移动。

A.6 植入周期

植入周期应符合 5.3 的规定，确保生物学组织反应达到稳定状态。

A.7 生物学反应评价

评价应考虑第 5 章的规定。

A.8 试验报告

试验结果的表述和最终试验报告应包括第 6 章中规定的项目，并应包括所选择的具体方法的理由。

附 录 B
（规范性）
肌肉植入试验方法

B.1 适用范围

本试验方法用于评估肌肉组织对植入材料的生物学反应。

B.2 原理

本试验方法系将植入物插入实验动物肌肉内，对试验样品植入物与对照样品植入物的生物学反应进行比较。对照材料是已确立临床可接受性和生物相容性的医疗器械所采用的材料。

B.3 试验样品

试验和对照样品的常规制备按 4.2 的规定，植入物尺寸根据选用的肌肉群的大小来确定。

采用兔脊柱旁肌进行试验时，一般采用宽 1 mm～3 mm、长度约 10 mm 的植入物。或者可手术植入直径最大为 10 mm、厚度 3 mm 的较大样品。

当与临床相关样品的全身毒性研究相结合进行植入试验时，可以使用其他与解剖学结构相适应的尺寸。

样品应制成圆形边缘，两端钝角修圆。

B.4 实验动物和植入部位

确保肌肉大小充分适应植入样品。每次试验只能使用一种动物。麻醉下将植入物插入动物的肌肉内。

注：兔脊柱旁肌为首选植入部位，较小的样品也可选用大鼠臀肌或兔股肌。

每一植入期至少采用 3 只动物和足够的植入部位，总数达到 10 个试验样品和 10 个对照样品。

用于评价的试验和对照样本应至少来自 3 只不同的动物。

如需要比较的对照材料预计产生的反应大于极轻微反应时，可在试验材料的对侧部位增加植入另外的已知能引起极轻微组织反应的对照材料。

非吸收性对照样品应在每一时间点进行评价。如果能提供可接受的科学论证并形成文件，则可接受在单一时间点评价对照材料的反应，并且应对下列情况进行说明：

——对照样品；

——植入周期；

——动物模型；

——研究方案；

——历史对照数据。

B.5 植入步骤

应采用皮下针或套管针植入法。对于较大的植入物，可采用其他适宜的外科植入技术。

沿肌纤维长轴平行将植入物植入肌内。

采用兔脊柱旁肌时，将足够数量的试验样品沿脊柱一侧植入肌内，与脊柱平行，离中线 25 mm～50 mm，各植入物间隔约 25 mm。同法在每只动物脊柱另一侧植入足够数量的对照样品。

B.6 植入周期

植入周期应符合 5.3 的规定，确保生物学组织反应达到稳定状态。

B.7 生物学反应评价

评价应考虑 5.5 规定的要求。

B.8 试验报告格式

试验结果的表述和最终试验报告应包括第 6 章中规定的要求。

附 录 C
（规范性）
骨植入试验方法

C.1 适用范围

本试验方法用于评估骨组织对植入材料的生物学反应。植入部位宜根据材料的最终用途选择松质骨（“海绵状”）或皮质骨。

本研究可用于比较同种材料不同表面结构或条件的影响，或用于评价材料经各种处理或改性后的影响。

C.2 原则

本方法系将植入物插入实验动物的骨组织内，对试验样品植入物与对照样品植入物的生物学反应进行比较，对照材料是已确立临床可接受性和生物相容性的医疗器械所采用的材料。

C.3 试验样品

C.3.1 总则

试验和对照样品的常规制备按 4.2 的规定。

C.3.2 植入样品形状

固形样品可加工成螺钉状或刻有螺纹，以使植入物在骨内能保持最初的稳定性。如无法加工成螺钉状，可制成圆柱形。

根据材料属性和试验目的可采用其他样品形状（如棒状、糊剂）。

C.3.3 试验样品尺寸

植入物尺寸根据选用的实验动物和骨的大小来确定，骨干中部皮质骨内植入物应考虑下列典型的尺寸：

a） 兔：直径 2 mm、长 6 mm 的圆柱状植入物；

b） 犬、绵羊和山羊：直径 4 mm、长 12 mm 的圆柱状植入物；

c） 兔、犬、绵羊、山羊和猪：2 mm～4.5 mm 骨内螺钉式植入物。

当与全身毒性研究合并进行临床相关样品的植入试验时，可以使用与解剖学结构相适应的其他尺寸。

C.4 实验动物和植入部位

C.4.1 实验动物

植入物应植入啮齿动物、犬、绵羊、山羊、猪或兔的骨内，按照 ISO 10993-2 规定的原则选择其中的一种动物。种属间骨的生理学差异至关重要，宜在植入前先对其进行评估。另外，相同种属的非特定目的选育的动物之间骨质量可能会有变异，并且可能需要测定骨密度，以识别合适的实验动物和解释试验结果。应论证选择理由并形成文件。

C.4.2 植入部位

试验和对照样品应采用等效的解剖位点，试验植入物应植于对照植入物的对侧。选择植入部位应

使植入物移位的风险为最低。每一植入期应评价至少 10 个试验样品和 10 个对照样品。用于评价一种材料的组织样本应至少取自 3 只动物。

非吸收性对照样品应在每一时间点进行评价。如果能提供可接受的科学论证并形成文件，则可接受在单一时间点评价对照材料的反应，并且应对下列情况进行说明：

——对照样品；

——植入周期；

——动物模型；

——研究方案；

——历史对照数据。

通常使用股骨和胫骨，也可考虑其他部位。

植入部位的数目应按下列：

a) 兔每只最多应有 6 个植入部位：

——3 个试验样品；

——3 个对照样品。

b) 犬、绵羊、山羊或猪每只最多应有 12 个植入部位：

——6 个试验样品；

——6 个对照样品。

任何一只动物不应植入多于 12 个样品。

选择动物大小、动物体重和年龄以及植入部位时，宜确保植入物放置不会造成试验部位病理性骨折的重大风险。使用年幼动物时，确保植入物避开骺区或其他未发育成熟骨尤为重要。

C.5 植入步骤

进行骨制备时，采用低转速并间歇地在骨上钻孔，操作时用生理盐水和吸引器进行充分灌洗，因为过热可导致局部组织坏死。

植入物直径与骨植入床适配良好对于避免纤维组织向骨内生长至关重要。

暴露每个股骨或胫骨的皮质，钻出适量的孔用于植入样品。兔最多制备 3 个孔，较大动物最多制备 6 个孔。植入前将孔扩至最终直径或攻出螺纹。柱状样品用手指按压嵌入，螺钉状植入物用器械按预定转距旋紧到位并记录该转距。

C.6 植入周期

植入周期应符合 5.3 的规定，确保生物学组织反应达到稳定状态。

C.7 生物学反应评价

评价应考虑 5.5 规定的要求。

C.8 试验报告

试验结果的表述和最终试验报告应包括第 6 章中规定的要求。

附 录 D
（规范性）
脑组织植入试验方法

D.1 适用范围

本试验方法用于评估脑组织对植入材料的生物学反应。宜根据该材料的最终用途来选择脑组织中的植入位点。

与血管壁接触但不与神经组织直接接触的神经介入器械的材料的评价应遵循 ISO 10993-4。

示例：脑部植入电极、脑积水分流器、引流器。

D.2 原则

将植入物插入实验动物的神经组织。将试验样品植入物与对照样品植入物的生物学反应进行比较。对照材料是已确立临床可接受性和生物相容性的医疗器械所采用的材料。

D.3 试验样品

D.3.1 总则

试验和对照样品按 4.2 的规定常规制备。

非吸收性对照样品应在每一时间点进行评价。如果能提供可接受的科学论证并形成文件，单个时间点评价对照材料的反应也可接受，并且应对下列情况进行说明：

——对照样品；

——植入周期；

——动物模型；

——研究方案；

——历史对照数据。

在试验样品预期产生的反应大于极轻微反应时，可以选择使用参比材料替代对照材料，该参比对照材料的反应是可接受的。参比对照材料的特性和预期用途及使用的合理性应予以论证。

D.3.2 植入物尺寸和形状

植入物尺寸依据动物种属和所选的植入部位而定。大鼠和兔应考虑下列典型尺寸。

脑实质内：

——棒状或楔形植入物：直径/截面不超过 1 mm×1 mm，长度 2 mm～6 mm；

——直径 8 mm 的圆盘可能是适宜的。

应根据所使用的材料对圆盘的厚度进行论证。对于预期主要与脑实质表面接触的医疗器械，试验样品应植入在脑实质表面。

D.4 实验动物和植入部位

D.4.1 实验动物

本试验方案使用大鼠或兔进行研究。如果是基于器械的原因使用其他种属的动物，可能需要对试验方案进行修改。除非充分论证单一性别动物的合理性，否则宜使用相同数量的、两种性别的动物。

应使用健康并且从未被使用过的动物进行试验。种属和年龄是重要的影响因素，宜在植入程序开始之前进行评估，这是因为其在神经生理学和生物学反应方面存在差异。

D.4.2 植入部位

每一时间点至少宜有 8 个试验和 8 个阴性对照部位(雌雄各半),以评价局部神经反应。试验和对照样品应使用等效的解剖学位点。仔细选择植入部位和手术程序对于减小机械创伤的风险至关重要。每只动物应只植入一侧大脑半球,并且应只包含一种类型的试验或对照植入物。大鼠每侧大脑半球可以植入一个位点,兔每侧可以植入两个位点。

在许多骨、肌肉和皮下植入的试验设计中,通常将试验和对照材料植入同一动物。但是,对于植入神经组织的材料,组织反应并不总是在局部,而是可能造成大范围的影响,有时甚至会穿过大脑半球。在实验动物大脑损伤模型中,小神经胶质细胞可能会被诱导,并沿着胼胝体的髓鞘迁移至对侧的大脑半球。因此,植入物激活的小神经胶质细胞可能沿着胼胝体迁移,继而影响到对侧大脑半球的生物学反应。这可能会加重阴性对照植入部位的反应,导致基线反应的变化。另外,对侧脑半球的损伤的影响可能会加重试验样品植入部位的损伤反应。在第一种情况下,可能改变阴性对照材料的正常基线反应,导致试验样品产生假阴性结果。在第二种情况下,对侧大脑半球发生的反应可能会加重“试验样品”的反应,从而导致假阳性结果。考虑到试验使用的动物数量较少,所以控制这些因素和降低数据的变异性的能力是非常重要的。因此,将试验组动物和对照组动物分开是非常有意义的。在植入器械反应的评价中,已经证实可能存在性别反应差异。为了控制由于性别不同引起的潜在变异性,在研究中每一种属宜使用相当数量的雄性和雌性动物。

D.5 植入步骤

每只动物在植入前宜进行称重并在植入后定期称重。在进行适宜的镇痛和麻醉处理后,准备动物颅骨手术。在整个手术过程中和植入后特定时间内应维持稳定的镇痛和麻醉状态。

动物在手术过程中宜进行适宜的固定。使用无菌操作技术,暴露颅骨并制备相似直径的孔洞使其能插入植入样品。另外,在脑膜上制备一个小孔洞,轻轻将植入物放入大脑的适宜部位。无论任何脑植入试验,手术技术很大程度上影响其试验结果,因为损伤反应的严重程度(神经胶质和神经元损伤)与物理创伤水平相关,并且可能导致研究结果无法解释。

立体定位手术法可以显著控制放置的精度,将插入部位的物理损伤降到最低。可以考虑其他的控制方法来固定动物。

D.6 植入周期

为了能够充分地表征反应,1 周的植入周期是必要的,以及其他适宜的时间间隔。如某些化学物质表现出来的一样,神经组织退化过程可能是迅速和短暂的,细胞可能在给予化合物后的最初几天死亡。

应根据材料的临床应用考虑更长的植入周期。

D.7 植入后观察

动物在植入后最初宜单独饲养,每天观察两次,以确保植入部位的正常愈合,恢复正常饮水、采食行为,以及是否有因手术造成的任何异常临床体征。基于最初观察结果调整观察频次。如果动物使用抗生素治疗,这一点需要进行说明。因为某些化合物如米诺环素能直接调节脑小神经胶质细胞和巨噬细胞的反应。

由于神经组织损伤能导致行为的异常,因此评价脑植入物反应时宜包括临床观察。

应对每只动物进行详细(1 次/周)的体检,以监测一般健康状况。应记录与植入物相关的所有观察结果,包括异常临床体征、异常行为、全身或中枢神经系统的临床表现。可以使用功能观察组合(FOB)或改良的 Irwin's 试验来帮助评估中枢神经系统的功能紊乱。临床体征可包括但不限于皮肤、皮毛、眼睛或黏膜改变,以及存在分泌物和排泄物或存在其他自主活动的证据(如流泪、竖毛、瞳孔大小、不正常

呼吸模式)。另外,应记录步态、姿势和对操作反应的改变,以及是否存在阵挛或强直发作、强迫症(如,过度梳理皮毛、重复转圈)或怪异行为(如自残、倒退行走)。对于这些行为和神经体征,宜记录首次观察时间和随后的进展或恢复情况。初步发现行为、神经学体征、步态、姿势或反应能力出现异常后,应启动相关体征的每日观察计划。

宜在试验开始前设定将动物从试验前早期剔除的终点。一旦出现严重的临床反应,宜咨询主治兽医师、有资质的实验动物兽医师或经培训能识别动物临床损害的人员进行临床检查。宜由主治兽医师或有资质的实验动物兽医师决定是否将实验动物从试验组中排除掉,并对其实施安乐死。

D.8 生物学反应的评价

评价应考虑 5.5 中规定的要求。

应对所有肉眼检查中观察到的总体改变进行进一步的显微镜评价。宜尽可能使用血管灌注固定来减少组织中的浸泡固定假象。另外,应肉眼检查颈部(引流)淋巴结,将其浸泡固定并进行显微镜检查。应检查对照组和试验组动物的脑组织。另外,应肉眼检查过早死亡或在研究过程中处死的动物组织并应对发现的任何损害进行显微镜检查。

神经病理学评价宜使用适宜的组织学染色、损伤的生物化学标志物,或两者结合的方法对神经胶质增生和神经退行性变组织进行评估。宜记录特殊染色/损伤标志物的使用,并用经过同行评议的适宜的参考文献来支持,这些参考文献描述了用于评价神经退行性变或神经胶质增生中使用的染色方法。表 D.1 列举的染色和生物标志物示例,可被用于评估植入物组织病理学效应。

表 D.1 大脑的生物标志物和染色示例

染色和生物标志物	评价的细胞类型或细胞组分
苏木素和伊红(H&E)	所有中枢神经系统(CNS)和淋巴结组织
Fluoro-jade	正在发生变性的神经元
自发荧光	神经退行性变
抗胶质纤维酸性蛋白(GFAP)抗体	GFAP(星形胶质细胞的生物标志物)
抗-iba-1 抗体	钙离子结合衔接分子 1(小神经胶质细胞特异性)
卢卡斯坚牢蓝	髓磷脂
氨基铜银染色	正在发生变性的神经元

不是所有种属的动物都有特异性抗体。

宜提供来自植入物部位的高分辨率图像,这些图像代表病理学家的诊断或记分观察结果,并能说明针对植入物的细胞反应的形态学细节。

应能识别特定的细胞亚群。图像宜包含一个显示放大倍数的标尺。

专题病理学家宜制定用于识别炎症的细胞准则和特征。宜预先规定定性和定量参数。表 E.4 中给出了用于神经组织中炎性改变的记分系统的示例。

细胞准则——识别涉及生物学反应的主要细胞类型或结构,如星形胶质细胞、中性粒细胞、小胶质细胞、纤维化和髓磷脂。识别小胶质细胞和星形胶质细胞反应的形态学特征,如神经突起特征、肥大、在变形过程中突起减少,以识别小神经胶质细胞反应的阶段。识别巨噬细胞样细胞的存在。如果存在相应的指征,可根据需要使用细胞特异性染色。

应对下列植入物周围的组织特征进行说明:

a) 植入物周围的神经元突起的破坏;

b) 植入物周围星形胶质细胞增生和结缔组织区域;

c) 大血管数量的增加;

d) 淋巴细胞浸润；

e) 小胶质细胞激活——分期表征；

f) 囊腔形成，存在巨细胞和巨噬细胞；

g) 矿化/钙化区域；

h) 室管膜层改变并且在如上的蛛网膜粒改变。

另外，检测植入路径毗邻的脑组织（～3 mm，同侧）和远离植入路径的脑组织可能是有用的。

检测植入路径毗邻的脑组织的参数包括：

——炎症细胞/浸润；

——出血；

——坏死；

——神经胶质增生，灰质；

——神经胶质增生，白质；

——其他。

检测远离植入路径的脑组织参数包括每只动物的其他非局部反应。

D.9 试验报告

提交的试验结果和最终试验报告应符合第 6 章中规定的要求，以及下列附加要求：

——植入位点周围组织的，具有代表性的高分辨率图像；

——每一植入位点的描述性说明；

——半定量记分。

附 录 E
（资料性）
植入后局部生物学反应评价示例

E.1 总则

参考文献（见[17]、[18]、[20]、[25]和[26]）中给出了半定量和定量记分系统示例。

对于每项组织学特性评价，诸如囊腔形成、炎症、多形核白细胞、巨细胞、浆细胞的存在和/或材料的降解，评价报告中宜描述所采用的半定量记分系统。除了反应成分的记分，还宜评价所有反应的程度。

下文和参考文献（见[21]、[25]、[26]、[31]和[40]）中描述了这种半定量记分系统的一些示例，表 E.1 和表 E.2 描述的评价系统可转换为表 E.3 描述的植入物评价系统。表 E.4 中给出了神经组织反应组织学评价系统的示例。

在这个半定量记分系统中，炎症细胞浸润和坏死用表 E.1 的记分系统。新生血管形成、纤维化和脂肪浸润用表 E.2 记分系统。在表 E.3 的示例中，因为炎症细胞浸润和坏死的重要性，与表 E.2 中的新生血管形成、纤维化和脂肪浸润参数相比，表 E.1 中的这些参数乘以权重因子 2。总值相加后分别计算试验和对照组的平均记分。从试验组平均分中减去对照组的平均分，根据表 E.3 中的记分确定反应等级。

该研究报告宜对每种细胞类型和新生血管形成反应进行说明。对于试验和对照部位之间存在显著差异值的每一细胞类型，研究报告宜解释该差异的相关性。

用于可吸收性材料生物学评价的记分系统的示例见参考文献[20]。

表 E.1 组织学评价系统示例——细胞类型/反应

细胞类型/反应	记分				
	0	1	2	3	4
多形核白细胞	0	极少，1 phf～5 phf[a]	5 phf～10 phf	重度浸润	满视野
淋巴细胞	0				
浆细胞	0				
巨噬细胞	0				
巨细胞	0	极少，1 phf～2 phf	3 phf～5 phf	重度浸润	成片分布
坏死	0	极少	轻微	中度	重度

[a] phf=高倍（400×）视野。

表 E.2 组织学评价系统示例——组织反应

反应	记分				
	0	1	2	3	4
新血管形成	0	轻微毛细血管增生，局灶性，1 个～3 个芽	4 组～7 组毛细血管增生，辅以成纤维细胞结构	较大范围的毛细血管增生，辅以成纤维细胞结构	广泛毛细血管增生，辅以成纤维细胞结构

表 E.2 组织学评价系统示例——组织反应（续）

反应	记分				
	0	1	2	3	4
纤维化	0	局限性区域	中度厚区域	厚区域	广泛区域
脂肪浸润	0	极少量脂肪细胞，伴纤维化	数层脂肪细胞和纤维化	植入部位脂肪细胞聚集区域延伸扩大	植入物周围完全被脂肪细胞包绕

表 E.3 半定量评价系统示例

试验样品	聚合物 XYZ					
植入时间	2 周					
对照样品	HDPE					
动物编号	试验样品			对照样品		
	1001	1002	1003	1001	1002	1003
F.1 炎症						
多形核白细胞	2	1	2	1	1	1
淋巴细胞	1	1	0	0	1	0
浆细胞	0	0	0	0	0	0
巨噬细胞	2	2	2	1	1	1
巨细胞	1	1	1	0	0	0
坏死	0	0	0	0	0	0
合计(×2)	12	10	10	4	6	4
F.2 新血管形成	0	0	0	0	0	0
纤维化	1	1	1	1	1	1
脂肪浸润	0	0	0	0	0	0
合计	1	1	1	1	1	1
总分(F.1 和 F.2)	13	11	11	5	7	5
组合计	35			17		
平均值[a]	11.7(—)			5.7=6		
创伤性坏死	0	0	0	0	0	0
异物碎片	0	0	0	0	0	0
检查植入物数量[b]	4	4	4	4	4	4
注：对于可降解材料可能需要进一步观察，即降解程度。						
[a] 用于确定下面结论中刺激等级，负差记录为零。 [b] 组织学评价记分代表该动物在所检查的植入物总数的平均记分。						

E.2 结论

在本研究条件下，与表 E.3 中阴性对照样品相比，该试验样品被认为对组织有以下反应：

__无刺激或极轻微刺激(0.0～2.9)；

X 轻度刺激(3.0～8.9)；

__中度刺激(9.0～15.0)；

__重度刺激(≥15.1)。

E.3 说明

如适用，可以附加其他说明以提供关于植入材料组织反应和/或变化观察结果的描述。

表 E.4 组织学评价系统示例——神经组织反应

组织学特征	记分				
	0	1	2	3	4
炎症细胞类型/反应 ——多形核白细胞； ——淋巴细胞	0	极少，1 phf～5 phf[a]	极少，5 phf～10 phf	中度浸润	重度浸润
浆细胞					
巨噬细胞/格子细胞					
多核巨细胞(MGC)	0	极少，1 phf～2 phf	极少，3 phf～5 phf		
坏死	0	极轻微	轻度	中度	重度
新血管形成	0	轻微毛细血管增生，局灶性，1 个～3 个芽	4 组～7 组毛细血管增生，辅以成纤维细胞结构	较大范围的毛细血管增生，辅以成纤维细胞结构	广泛毛细血管增生，辅以成纤维细胞结构
纤维化					
星形细胞增生/脂肪浸润	0	局限性区域	中度厚区域	厚区域	广泛区域

[a] phf＝高倍(400×)视野。

参 考 文 献

[1] ISO 5832-1 Implants for surgery—Metallic materials—Part 1:Wrought stainless steel

[2] ISO 5832-2 Implants for surgery—Metallic materials—Part 2:Unalloyed titanium

[3] ISO 5832-3 Implants for surgery—Metallic materials—Part 3:Wrought titanium 6-aluminium 4-vanadium alloy

[4] ISO 5832-4 Implants for surgery—Metallic materials—Part 4:Cobalt-chromium-molybdenum casting alloy

[5] ISO 5832-5 Implants for surgery—Metallic materials—Part 5:Wrought cobalt-chromium-tungsten-nickel alloy

[6] ISO 5832-6 Implants for surgery—Metallic materials—Part 6:Wrought cobalt-nickel-chromiummolybdenum alloy

[7] ISO 5832-7 Implants for surgery—Metallic materials—Part 7:Forgeable and cold-formed cobaltchromium-nickel-molybdenum-iron alloy

[8] ISO 5832-8 Implants for surgery—Metallic materials—Part 8:Wrought cobalt-nickel-chromiummolybdenum-tungsten-iron alloy

[9] ISO 5834-2 Implants for surgery—Ultra-high-molecular-weight polyethylene—Part 2:Moulded forms

[10] ISO 6474-1 Implants for surgery—Ceramic materials—Part 1:Ceramic materials based on high purity alumina

[11] ISO 6474-2 Implants for surgery—Ceramic materials—Part 2:Composite materials based on a high-purity alumina matrix with zirconia reinforcement

[12] ISO 7405 Dentistry—Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry

[13] ISO 10993-9 Biological evaluation of medical devices—Part 9:Framework for identification and quantification of potential degradation products

[14] ASTM F748 Standard Practice for Selecting Generic Biological Test Methods for Materials and Devices

[15] ASTM F763 Standard Practice for Short-Term Screening of Implant Materials

[16] ASTM F981 Standard Practice for Assessment of Compatibility of Biomaterials for Surgical Implants with Respect to Effect of Materials on Muscle and Bone

[17] ASTM F1983 Standard Practice for Assessment of Compatibiltiy of Absorbable/Resorbale Biomaterials for Implant

[18] MHLW Notification, Principles for Biological Safety Evaluation of Medical Devices: IYAKUSHIN No.0213001 (2003.02.13)

[19] COHEN, J., Assay of Foreign-Body Reaction, Journal of Bone and Joint Surgery, 41A, 1959, pp.152-166

[20] DE JONG, W.H., BERGSMA, J.E., ROBINSON, J.E.and BOS, R.R.M., Tissue response to partially in vitro predegraded poly-L-lactide implants, Biomaterials, 26, 2005, pp.1781-1791

[21] WISE, D.L., TRANTOLO, D.J., ALTOBELLI, D.E., YASZEMSKI, M.J., GRESSER, J.D., SCHWARTZ, E.R.and DEKKER, M., Evaluating the Biological Effects of Medical Devices, Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering, 1, New York, 1995, pp.422-424

[22] FERGUSON, A.B.Jr., LAING, P.G.and HODGE, E.S., The Ionization of Metal Implants

in Living Tissues, Journal of Bone and Joint Surgery, 42A, 1960, pp.77-90

[23] GERET, V., RAHN, B.A., MATHYS, R., STRAUMANN, F. and PERREN, S.M., In vivo Testing of Tissue Tolerance of Implant Materials: Improved Quantitative Evaluation through Reduction of Relative Motion at the Implant Tissue Interface, from Current Concepts of Internal Fixation of Fracture, H.K.Uhthoff (ed.), Springer Verlag, 1980

[24] GERET, V., RAHN, B.A., MATHYS, R., STRAUMANN, F. and PERREN, S.M., Chapter 35: A Method for Testing Tissue Tolerance for Improved Quantitative Evaluation Through Reduction of Relative Motion at the Implant-Tissue Interface. Evaluation of Biomaterials, G.D.Winter, J.L.Leray, K.de Groot (eds), John Wiley & Sons Ltd., 1980

[25] IKARASHI, Y., TOYODA, K., OHSAWA, N., UCHIMA, T., TSUCHIYA, T., KANIWA, M., SATO, M., TAKAHASHI, M. and NAKAMURA, A., Comparative Studies by Cell Culture and in vivo Implantation Test on the Toxicity of Natural Rubber Latex Materials, J Biomed Mater Res, 26, 1992, pp.339-356

[26] IKARASHI, Y., TSUCHIYA, T., TOYODA, K., KOBAYASHI, E., DOI, H., YONEYAMA, T. and HAMANAKA, H., Tissue Reactions and Sensitivity to Iron Chromium Alloys, Mater Trans, 43, 2002, pp. 3065-3071

[27] KAMINSKI, E.J., OGLESBY, R.J., WOOD, N.K. and SANDRIK, J., The Behavior of Biological Materials at Different Sites of Implantation, J Biomed Mater Res, 2, 1968, pp.81-88

[28] LAING, P.G., FERGUSON, A.B.Jr. and HODGE, E.S., Tissue Reaction in Rabbit Muscle Exposed to Metallic Implants, J Biomed Mater Res, 1, 1967, pp.135-149

[29] LANGELAND, K., GUTTUSO, J., LANGELAND, L.L. and TOBON, G., Methods in the study of biological response to endodontic materials. Tissue response to N2 (root canal sealer), Oral Surg, 27, 1969, p.522

[30] PREUL, M.C., BICHARD, W.D., MUENCH, T. and SPETZLER, R.F., Toward optimal tissue sealants for neurosurgery: use of a novel hydrogel in a canine durotomy repair model, Neurosurgery, 2003

[31] RAHN, B.A., GERET, V., CAPAUL, C., LARDI, M. and SOLOTHURNMANN, B., Morphometric Evaluation of Tissue Reaction to Implants Using Low Cost Digitizing Techniques, Clinical Applications of Biomaterials, A.J.C.Lee, T.Albrektsson and P.-I.Branemark (eds), John Wiley & Sons Ltd., 1982

[32] TILNEY, N.L., Patterns of lymphatic drainage in the adult laboratory rat, J.Anat.109(3), 1971, pp.369-383

[33] TORNECK, C.D., Reaction of Rat Connective Tissue to Polyethylene Tube Implants, Oral Surg, 21, 1966, p.379

[34] TORNECK, C.D., Reaction of Rat Connective Tissue to Polyethylene Implants, Oral Surg, 24, 1967, p.674

[35] TURNER, E., LAWRENCE, W.H. and AUTIAN, J., Subacute Toxicity Testing of Biomaterials Using Histological Evaluation of Rabbit Muscle Tissue, Journal of Biomedical Materials Research, 7, 1973, pp.39-58

[36] UPMAN, P.J., Toxicity Testing (of medical devices), Handbook of Biomaterials Evaluation, A.Von Recum (ed.), 2nd ed., Taylor & Francis, 1998, pp.285-286

[37] UPMAN, P.J. and MUENCH, T., Comprehensive Histopathology Scoring System for Biomaterial Implants, Am. College of Toxicology meeting, Palm Springs, CA, Nov 7-10, 2004; Abstract published International Journal Toxicol., 23, 2004, p.384

[38] US FDA-CDRH Guidance document for testing biodegradable polymer implant devices;available under:http://www.fda.gov/cdrh/ode/odegr914.html

[39] U.S.Pharmacopeia,Biological reactivity tests,in-vivo

[40] Pizzoferrato A.,Savarino L.,Stea S.,Tarabusi C.Result of Histological Grading on 100 cases of Hip Prosthesis Failure.Biomaterials.1988,9 pp.314-318

[41] Yamada T.,Nakaoka R.,Sawada R.,Matsuoka A.,Tsuchiya T.Effects of Intracerebral Microinjection of Hydroxylated-[60]Fullerence on Brain Monoamine Concentrations and Locomotor Behaviour in Rats.J.Nanotechnol.2009,9 pp.1-8

[42] Fanning N.F.,Willinsky R.A.,ter Brugge K.G.Wall Enhancement,Edema,and Hydrocephalus After Endovascular Coil Occlusion of Intradural Cerebral Aneurysms.J.Neurosurg.2008,108(6) pp.1074-1086

[43] Wiesenfeld-Hallin Z.Sex differences in pain perception.Gend.Med.2005,2(3) pp.137-145

[44] Exploring the Biological Contribution to Human Health.In:Does Sex MatterWizemann T. M.,& Pardue M.L.eds.).Institute of Medicine,National Academy Press,2001

[45] Carmichael N.M.,Charlton M.P.,Dostrovsky J.O.Sex Differences in Inflammation Evoked by Noxious Chemical,Heat and Electrical Stimulation.Brain Res.2009,1276 pp.103-111

[46] Bolon B."Current Pathology Techniques" Symposium Review:Advances and Issues in Neuropathology.Toxicol.Pathol.2008,36 pp.871-889

[47] ISO 11979-5 Ophthalmic implants—Intraocular lenses—Part 5:Biocompatibility

[48] Polikov V.S.,Tresco P.A.,Reichert W.M.Response of Brain Tissue to Chronically Implanted Neural Electrodes.J.Neurosci.Methods.2005,148 pp.1-18

[49] Tikka T.,Fiebich B.L.,Goldsteins G.,Keinanen R.,Koistinaho J.Minocycline,a Tetracycline Derivative,is Neuroprotective Against Excitotoxicity by Inhibiting Activation and Proliferation of Microglia.J. Neurosci.2001,15 pp.2580-2588

[50] Jordan W.H.,Young J.K.,Hyten M.J.,Hall D.G.Preparation and analysis of the central nervous system.Toxicol.Pathol.2011,39 pp.58-65

[51] Therin M.,Christel P.,Meunier A.Analysis of the general features of the soft tissue response to some metals and ceramics using quantitative histomorphometry.J.Biomed.Mater.Res.1994, 28 (11) pp.1267-1276

[52] ISO 10993-11 Biological evaluation of medical devices—Part 11:Tests for systemic toxicity

[53] ISO/TR 37137:2014 Cardiovascular biological evaluation of medical devices—Guidance for absorbable implants

GB/T 16886.6—2022/ISO 10993-6：2016

中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
医疗器械生物学评价
第 6 部分：植入后局部反应试验
GB/T 16886.6—2022/ISO 10993-6：2016
*
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(100029)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室：(010)68533533 发行中心：(010)51780238
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 56 千字
2022 年 4 月第一版 2022 年 4 月第一次印刷
*
书号：155066·1-69247 定价 38.00 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 16886.6-2022

码上扫一扫 正版服务到