



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0127.14—2009

口腔医疗器械生物学评价 第2单元:试验方法 急性经口全身毒性试验

Biological evaluation of medical devices used in dentistry—
Part 2: Test method—Acute oral toxicity test

2009-06-16 发布

2010-12-01 实施

国家食品药品监督管理局 发布

前 言

《口腔医疗器械生物学评价》系列标准中的第1单元,YY/T 0268—2008《牙科学 口腔医疗器械生物学评价 第1单元:评价与试验》是口腔医疗器械生物学评价与试验项目的选择,为指南性标准。

YY/T 0127《口腔材料生物学评价 第2单元:试验方法》分为以下几部分:

- YY/T 0127.1—1993 口腔材料生物试验方法 溶血试验;
- YY/T 0127.2—2009 口腔医疗器械生物学评价 第2单元:试验方法 急性全身毒性试验-静脉途径;
- YY/T 0127.3—1998 口腔材料生物学评价 第2单元:口腔材料生物试验方法 根管内应用试验;
- YY/T 0127.4—1998 口腔材料生物学评价 第2单元:口腔材料生物试验方法 骨埋植试验;
- YY/T 0127.5—1999 口腔材料生物学评价 第2单元:口腔材料生物试验方法 吸入毒性试验;
- YY/T 0127.6—1998 口腔材料生物学评价 第2单元:口腔材料生物试验方法 显性致死试验;
- YY/T 0127.7—2001 口腔材料生物学评价 第2单元:口腔材料生物试验方法 牙髓牙本质应用试验;
- YY/T 0127.8—2001 口腔材料生物学评价 第2单元:口腔材料生物试验方法 皮下植入试验;
- YY/T 0127.9—2001 口腔材料生物学评价 第2单元:口腔材料生物试验方法 细胞毒性试验(琼脂覆盖法及分子滤过法);
- YY/T 0127.10—2009 口腔医疗器械生物学评价 第2单元:试验方法 鼠伤寒沙门氏杆菌回复突变试验(Ames 试验);
- YY/T 0127.11—2001 牙科学 用于口腔的医疗器械生物相容性临床前评价 第2单元:口腔材料生物试验方法 盖髓试验;
- YY/T 0127.12—2008 牙科学 口腔医疗器械生物学评价 第2单元:试验方法 微核试验;
- YY/T 0127.13—2009 口腔医疗器械生物学评价 第2单元:试验方法 口腔黏膜刺激试验;
- YY/T 0127.14—2009 口腔医疗器械生物学评价 第2单元:试验方法 急性经口全身毒性试验;
- YY/T 0244—1996 口腔材料生物试验方法 短期全身毒性试验:经口途径。

本部分为 YY/T 0127 的第14部分。

本部分由国家食品药品监督管理局提出。

本部分由全国口腔材料和器械设备标准化技术委员会归口。

本部分由国家食品药品监督管理局北大医疗器械质量监督检验中心负责起草。

本部分主要起草人:林红、郝鹏、李盛林、葛兮源、付嘉。

口腔医疗器械生物学评价

第2单元:试验方法

急性经口全身毒性试验

1 范围

YY/T 0127 的本部分规定了口腔医疗器械急性经口全身毒性试验方法。

本部分适用于评价口腔医疗器械经口途径的急性全身毒性。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 YY/T 0127 本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件,其随后所有的修改单(不包括勘误的内容)或修订版均不适用于本部分,然而,鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件,其最新版本适用于本部分。

GB/T 16886.12 医疗器械生物学评价 第12部分 样品制备与参照样品(GB/T 16886.12—2005,ISO 10993.12:2002,IDT)

GB/T 15193.3—2003 急性毒性试验

3 总则

急性经口毒性试验是评估材料毒性特性的一种方式,通过短时间经口染毒可提供对健康危害的信息。试验结果可作为材料毒性分级和标签标识的依据。急性经口毒性试验是亚慢性试验和其他试验确定剂量接触方式的初试步骤,并且可提供材料毒性作用模式方面的信息。

4 术语和定义

下列术语和定义适用于 YY/T 0127 的本部分。

4.1

急性经口毒性 acute oral toxicity

一次或在 24 h 内多次经口给予试验动物受试物后,动物在短期内出现的健康损害效应。

4.2

剂量 dose

是接受受试物的数量。以受试物的重量(g,mg)或动物单位体重接受受试物的重量(mg/kg 或 g/kg)来表示。

4.3

经口 LD₅₀半数致死量 medium lethal dose

经口一次给予受试物后,引起试验动物总体中半数死亡的毒物的统计学剂量。以动物单位体重接受受试物的重量(mg/kg 或 g/kg)来表示。

5 试验原则

灌胃法经口给予各试验组动物不同剂量的受试物,每组用一个剂量,剂量的选择可通过预试验确定。染毒后观察动物的毒性反应和死亡情况。试验期间死亡的动物要进行尸检,试验结束时仍存活的

动物要处死并进行尸检。对出现明显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。

6 试验方法

6.1 试样制备

6.1.1 受试物应溶解或悬浮于适宜的介质中,建议首选水,其次是植物油(如玉米油),或考虑使用其他介质。对非水溶性介质,应了解其毒理特性,否则应在试验前先确定其毒性。每次所给液体的最大容量为 50 mL/kg。通过调整受试物溶液浓度使各剂量组经口染毒的容量接近一致。

材料浸提液的制备按照 GB/T 16886.12 的规定进行。

6.1.2 分散介质

根据所用材料,选择如下分散介质之一,使配成的材料呈溶液、乳浊液或悬浮液。

6.1.2.1 蒸馏水。

6.1.2.2 2%淀粉溶液 将 4 g 淀粉溶于 200 mL 馏水中,煮沸后冷却至室温,备用。或将 2%淀粉液置于 4℃冰箱中,于 24 h 之内使用,用前恢复温度至室温。

6.1.2.3 食用级芝麻油或橄榄油。

6.1.2.4 其他合适的分散介质(如:1%~3%羧甲基纤维素溶液,桃胶溶液,吐温 80)。

6.1.2.5 0.154 mol/L 氯化钠溶液。

6.1.3 试验材料预备

6.1.3.1 固体材料

将材料冷研成或切削成粒度小于 200 μm 的颗粒。制备过程中使用的器具均应不被油、灰尘污染。若需消毒,则于 121℃下消毒 30 min。若材料不能用蒸汽灭菌法消毒,则用相应其他方法消毒。

6.1.3.2 糊状或橡皮样材料

将一定量的材料放于分散介质中达到指定的浓度。用高速搅拌器搅拌混合 30 s,如需过滤,则应计算滤液中材料的浓度。

6.1.4 试样制备

水溶性材料,用 6.1.2.1 中的介质制备成 20%的水溶液。油溶性材料,用 6.1.2.3 中的介质制备成 20%油溶液。水油均难溶者可用 6.1.2.2 中的介质配成 20%混悬液。若材料不能制备成溶液、悬浮液或乳浊液,或材料难以制成粒度小于 200 μm 的颗粒,则制备材料浸提液。

6.2 试验动物

选用健康、初成年大鼠或小鼠。实验动物体重之间相差不得超过平均体重的 20%。

如使用雌性动物,宜未育并无孕。在试验前至少 3 d~5 d 使动物适应实验室环境。

试验动物及动物饲养应符合国家相应规定。选用常规饲料,饮水不限制。

6.3 试验条件

在试验前先对材料潜在毒性进行评价,根据材料特性选择如下试验方法。

对于已知毒性较低的材料,首先进行限量试验,若动物无毒性体征或有毒性体征但无死亡,试验结束。若动物出现死亡,可考虑进行固定剂量试验或“上-下”法试验。

对于已知有潜在毒性的材料进行固定剂量试验或“上-下”法试验。

6.3.1 限量试验:动物经口给服材料的剂量为 2 000 mg/kg,经口给服浸提液的量为 50 mL/kg,观察动物的毒性反应。

6.3.2 固定剂量试验:选取 5 mg/kg、50 mg/kg、300 mg/kg、2 000 mg/kg 的剂量水平(浸提液剂量 0.025 mL/kg、0.25 mL/kg、1.5 mL/kg、10 mL/kg),从中间剂量开始试验。观察动物出现毒性反应的剂量水平。

6.3.3 “上-下”法试验:选取 1.75 mg/kg、5.5 mg/kg、17.5 mg/kg、55 mg/kg、175 mg/kg、550 mg/kg、

2 000 mg/kg 或 5 000 mg/kg 的剂量水平(浸提液剂量 0.008 75 mL/kg、0.027 5 mL/kg、0.087 5 mL/kg、0.275 mL/kg、0.875 mL/kg、2.75 mL/kg、10 mL/kg 或 25 mL/kg),从中间剂量开始试验。观察动物出现死亡的剂量水平。

6.4 观察期

观察周期 14 d,必要时可延长,视动物中毒反应的严重程度、症状出现快慢和恢复期长短而定。若有迟发性死亡现象,可延长观察时间。

6.5 给服方法

用连有灌胃针头的注射器或其他灌胃法给服试样。给服材料前需禁食 4 h~18 h,不禁水。

正式试验时,称量动物体重,对动物用灌胃法一次给予受试物,若不能一次给药,也可在 24 h 内分多次小剂量给药。给药后继续禁食 3 h~4 h。若采用分批多次给药,根据给药间隔长短,必要时可给动物一定量的食物和水。随后对动物进行定期的观察记录。

6.6 观察

给药后,对每只动物都应有单独全面的记录,要定时观察实验动物的中毒表现和死亡情况,至少每天进行一次仔细的检查。详细记录被毛和皮肤、眼睛和粘膜,呼吸、循环、自主神经和中枢神经系统、肢体活动和行为等改变。特别注意是否出现震颤、抽搐、流涎、腹泻、嗜睡和昏迷等症状。应记录中毒体征出现和消失的时间和死亡时间。具体观察指标见表 1。

表 1 临床中毒体征表

器官系统	观察及检查项目	中毒后一般表现
中枢神经系统及躯体运动	行为	改变姿势,叫声异常,不安或吊滞
	动作	震颤,运动失调,麻痹,惊厥,强制性动作
	各种刺激的反应	易兴奋,知觉过敏或缺乏知觉
	大脑及脊髓反射	减弱或消失
	肌肉张力	强直,弛缓
自主神经系统	瞳孔大小	缩小或放大
	分泌	流涎,流泪
呼吸系统	鼻孔	流鼻涕
	呼吸性质和速率	徐缓,困难,潮式呼吸
心血管系统	心区触诊	心动过缓,心律不齐,心跳过强或过弱
胃肠系统	腹形	气胀或收缩,腹泻或便秘
	粪便硬度和颜色	粪便不成形,黑色或灰色
生殖泌尿系统	阴户,乳腺	膨胀
	阴茎	脱垂
	会阴部	污秽
皮肤和毛皮	颜色,张力	发红,皱褶,松弛,皮疹
	完整性	竖毛
粘膜	粘膜	流粘液,充血,出血性紫绀,苍白
	口腔	溃疡
眼	眼睑	上睑下垂
	眼球	眼球突出或震颤
	透明度	混浊
其他	直肠或皮肤温度	降低或升高
	一般情况	姿势不正常,消瘦

给药前即刻称重,观察期内存活动物每周称重,观察期结束存活动物应称重,处死后进行尸检。

6.7 病理检查

对实验动物进行大体解剖学检查,并记录全部大体病理改变。对死亡和存在大体病理改变的存活动物的器官应进行病理组织学检查。

6.8 结果评价注意事项

对急性全身毒性试验中的发现应结合以前的研究信息进行评价,并分析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,如举止和临床异常症状、一般症状、体重变化、致死作用以及其他一般性或特异性作用。

7 试验方法

7.1 限量试验

10只动物(雌雄各半)口服给予2000 mg/kg的试验材料,经口给服浸提液的量为50 mL/kg。

若无动物出现中毒体征,则试验结束,认为该材料的 $LD_{50} > 2000$ mg/kg,该材料无急性经口毒性。

若无动物死亡但出现中毒体征,则试验结束,认为该材料的 $LD_{50} > 2000$ mg/kg,该材料在2000 mg/kg剂量下有急性经口毒性。若需要,可考虑进行固定剂量试验,以进一步确定出现毒性的剂量水平。

若有动物死亡,则试验终止,该材料在2000 mg/kg剂量下有急性经口全身毒性。若需要,可考虑进行固定剂量试验或进行“上-下”法试验以确定其 LD_{50} 。

7.2 固定剂量试验

7.2.1 步骤

预试验:用单性别1只动物循序进行,选取5 mg/kg、50 mg/kg、300 mg/kg、2000 mg/kg的剂量水平(浸提液剂量0.025 mL/kg、0.25 mL/kg、1.5 mL/kg、10 mL/kg),从中间剂量开始试验。观察动物出现毒性反应的剂量水平。观察24 h,若动物无明显毒性反应,下一只提高一档剂量,如出现毒性反应,则预试验结束,正式试验从该剂量开始。若有动物死亡,则整个试验结束。每一只存活动物都需观察至14 d,后期死亡动物在统计结果时也要记为死亡。

正式试验:按预试验确定的剂量开始,每个剂量组5只动物,如果该剂量组有1只以上动物出现毒性体征和或仅有1只动物死亡,则试验结束。如果该剂量组有2只动物死亡,则降低一档剂量开始下一组试验。如果该剂量组5只动物未出现毒性体征,则提高一档剂量开始下一组试验。

7.2.2 结果判定

若有1只动物在任一剂量水平试验中出现明显毒性体征或仅有1只动物死亡,则认为该材料在该剂量水平下有急性经口全身毒性。

7.3 “上-下”法试验

用单性别1只动物循序进行,推荐采用剂量序列1.75 mg/kg、5.5 mg/kg、17.5 mg/kg、55 mg/kg、175 mg/kg、550 mg/kg、2000 mg/kg或5000 mg/kg(浸提液剂量0.00875 mL/kg、0.0275 mL/kg、0.0875 mL/kg、0.275 mL/kg、0.875 mL/kg、2.75 mL/kg、10 mL/kg或25 mL/kg),对数剂量间隔1/2(3.2倍)。对数剂量间隔选1到1/8也是可以接受的。第1只动物从比理论 LD_{50} 值稍低的剂量开始试验。如无毒性资料可以参考,推荐从175 mg/kg开始。

观察动物出现死亡的剂量水平。观察24 h,若动物不死亡,下一只提高一档剂量,若死亡,降一档剂量。每一只存活动物都需观察至14 d,后期死亡动物在统计结果时也要记为死亡。

试验结束的判定标准为:

- a) 连续 3 次提高剂量均无动物死亡；
- b) 在顺序试验的 6 只动物中,有 5 次出现死/活(或活/死)交替的结果。

试验结束后可计算 LD_{50} 和 95%可信限。

可采用美国毒理学会设计的计算机程序(AOT4255tatPgm)用于剂量设计、试验终止和剂量计算。

也可使用 Korbner 法进行计算。具体计算方法参见 GB 15193.3。

参 考 文 献

- [1] OECD guidelines for the testing of chemicals No. 401 Acute Oral Toxicity
 - [2] OECD guidelines for the testing of chemicals No. 420 Acute Oral Toxicity Fixed Dose Procedure
 - [3] OECD guidelines for the testing of chemicals No. 425 Acute Oral Toxicity-Up-and-Down Procedure
 - [4] GB/T 16886.11 医疗器械生物学评价 第11部分:全身毒性试验
 - [5] GB 15193.3 急性毒性试验
-