

前 言

本标准非等效采用国际标准化组织 ISO/TR 7405:1984《牙科材料生物学评价——显性致死试验》。

本标准主要依据 ISO/TR 7405:1984《牙科材料生物学评价——显性致死试验》,OECD No. 478—1984《化学药品试验指南啮齿动物显性致死试验》制定。

ISO/TR 7405:1984 对试验结果判断和评价指标未作出具体规定,因此,本标准采用了 OECD No. 478—1984 和《新药审批办法》的结果判断和评价。

本标准由国家药品监督管理局提出。

本标准由全国口腔材料和设备标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:四川省生物医学材料监测中心。

本标准主要起草人:彭蕾、邱书明、朱蔚精。

中华人民共和国医药行业标准

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 0127.6—1999

Biological evaluation of dental materials

Unit 2: Biological test methods of dental
materials—Dominant lethal test

1 范围

本标准规定了口腔材料显性致死试验方法。
本标准适用于评价口腔材料引起的显性致死。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成为本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

ISO/TR 7405:1984 牙科材料生物学评价

OECD No. 478—1984 化学药品试验指南——啮齿动物显性致死试验

YY/T 0244—1996 口腔材料生物试验方法短期全身毒性试验 径口途径

新药审批办法 中华人民共和国卫生部

3 定义

本标准采用下列定义。

3.1 显性致死 dominantlethal

发生于配子(精子或卵子)的一种遗传结构改变,这种改变导致由这一配子所产生的合子或由这一合子发育而成的胚胎死亡。

3.2 胎块(早死胚胎) mole

着床后早期死亡的胚胎,不具备完整的胚胎外形。

3.3 晚死胎 late fetal death

胚胎发育到一定程度后具有完整胚胎外形的死亡胚胎。

3.4 着床腺 deciduoma

受精卵着床后子宫内壁上的微小突起。

3.5 半数致死量 LD₅₀ median lethal dose, LD₅₀

为某一物质在试验总体动物中引起 50% 动物死亡的剂量。

4 试验动物

试验使用性成熟的小鼠。雌鼠为 8~10 周龄,雄鼠为 10~12 周龄。使用未接受过任何试验的动物,

国家药品监督管理局 1999-06-07 批准

1999-10-01 实施

雌鼠未交配过。雄鼠在试验材料染毒后直接使用。每组应包括 15 只雄鼠和 240 只雌鼠。

5 试验材料与对照材料

5.1 试验材料制备

按 YY/T 0244—1996 的规定进行。

5.2 剂量分组

在初期的显性致死评价中,可采用单一剂量,但进一步评价至少需要三个剂量组。

5.2.1 若试验材料的毒性很低或无毒性,其最高剂量一次给予应达到 5 g/kg 或 5 mL/kg;多次(5 次)给予应达到 1 g/(kg·d)或 1 mL/(kg·d)。浸提液的最高剂量可采用 50 mL/kg。

5.2.2 根据被试材料的毒性试验结果,最大剂量可采用 1/10~1/3 LD₅₀。中、小剂量约为最大剂量的 1/3~1/10。高剂量组动物应出现毒性症状或降低繁殖力。

5.3 阴性对照

阴性对照可使用试验材料的溶剂,分散介质或浸提介质。例如,当试验材料用 0.5%吐温 80 制备成混悬液使用时,则阴性对照给予 0.5%吐温 80,10 mL/kg。

5.4 阳性对照

可用甲基磺酸乙酯水溶液 100 mg/kg 或环磷酰胺水溶液 200 mg/kg。在试验交配前一天,给雄鼠腹腔注射一次。

6 生育试验

在接触试验材料前应进行生育试验,以便选择具有生育能力的雄鼠进行显性致死评价。可用 20 只雄鼠,从中获得 15 只具有生育能力的雄鼠。随机分配到各试验组中进行试验。用 1 只雄鼠与 2 只未交配过的雌鼠合笼 7 天,交配大多数发生在合笼后 2~3 d。在胚胎发育的第 13 d,即雄、雌合笼后的第 15~16 d,处死雌鼠,检查子宫内活胎数和早、晚期死胎数,以此作为显性致死率的评价基础。

7 试验步骤

7.1 染毒

用试验材料染毒已选出的雄鼠。可采用一次给药或多次(5 次)给药,即每日 1 次,连续 5 d。经口或腹腔注射。

7.2 交配

于最后一次染毒后的 1~2 d 开始交配,第一周用 1 只经试验材料染毒的雄鼠与 2 只未交配过的雌鼠合笼 5 d。休息 2 d。以后每周更换一批新雌鼠,让雄鼠与 2 只未交配过的新雌鼠交配,连续 6~8 周,重复这一步骤。以便评价精子生成前,减数分裂前、后阶段的遗传毒性。在合笼期间每日检查雌鼠阴道内有无阴栓或阴道涂片检查精子。查出阴栓或精子的当天为妊娠 0 d,未查出的以合笼的第 4 d 定为妊娠 0 d。

7.3 观察

于妊娠的第 13 d,处死雌鼠将妊娠子宫取出,放置在铺有白纸的解剖板上,观察着床腺数,胎块数,晚死胎数和活胎数。

8 结果

以染毒剂量组和交配周次为单位计算下列指标。

8.1 受孕率

$$\text{受孕率}(\%) = \frac{\text{受孕雌鼠数}}{\text{交配雌鼠数}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

8.2 着床数

着床数 = 着床腺数 + 胎块数 + 晚死胎数 + 活胎数

$$\text{平均着床数} = \frac{\text{着床数}}{\text{孕鼠数}} \dots\dots\dots (2)$$

8.3 死胎率

死胎数 = 晚死胎数 + 胎块数

$$\text{死胎率}(\%) = \frac{\text{死胎数}}{\text{着床数}} \times 100 \dots\dots\dots (3)$$

$$\text{平均死胎率}(\%) = \frac{\text{死胎数}}{\text{孕鼠数}} \times 100 \dots\dots\dots (4)$$

9 统计分析与结果判断

9.1 统计分析

用 2×2 χ^2 检验或方差分析处理所得数据。

9.2 结果判断

若死胎数增加;活胎数减少;胚胎着床总数减少或未着床胚胎数增加,这些结果具有统计学意义,并有剂量效应关系时,可记为显性致死阳性。

10 评价

若试验材料结果阳性,并有剂量效应关系,则可认为该材料对试验动物生殖细胞有遗传毒性,试验材料不符合本标准要求。

若试验材料结果阴性,则试验材料符合本标准要求。