



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0127.19—2023

口腔医疗器械生物学评价 第 19 部分： 亚急性和亚慢性全身毒性试验： 植入途径

Biological evaluation of medical devices used in dentistry—
Part 19: Subacute and subchronic systemic toxicity test: implant route

2023-11-22 发布

2024-12-01 实施

国家药品监督管理局 发布

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 YY/T 0127《口腔医疗器械生物学评价》的第19部分。YY/T 0127 已经发布了以下部分：

- YY/T 0127.1 口腔材料生物试验方法溶血试验；
- YY/T 0127.3 口腔医疗器械生物学评价 第3部分：根管内应用试验；
- YY/T 0127.4 口腔医疗器械生物学评价 第4部分：骨植入试验；
- YY/T 0127.5 口腔医疗器械生物学评价 第5部分：吸入毒性试验；
- YY/T 0127.6 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 口腔医疗器械生物学评价 第7部分：牙髓牙本质应用试验；
- YY/T 0127.8 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 口腔医疗器械生物学评价 第2单元：试验方法 细胞毒性试验：琼脂扩散法及滤膜扩散法；
- YY/T 0127.10 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 口腔医疗器械生物学评价 第11部分：盖髓试验；
- YY/T 0127.12 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 口腔医疗器械生物学评价 第13部分：口腔黏膜刺激试验；
- YY/T 0127.14 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 0127.15 口腔医疗器械生物学评价 第15部分：亚急性和亚慢性全身毒性试验：经口途径；
- YY/T 0127.16 口腔医疗器械生物学评价 第2单元：试验方法 哺乳动物细胞体外染色体畸变试验；
- YY/T 0127.17 口腔医疗器械生物学评价 第17部分：小鼠淋巴瘤细胞(TK)基因突变试验；
- YY/T 0127.18 口腔医疗器械生物学评价 第18部分：牙本质屏障细胞毒性试验；
- YY/T 0127.19 口腔医疗器械生物学评价 第19部分：亚急性和亚慢性全身毒性试验：植入途径。

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。

本文件由全国口腔材料和器械设备标准化技术委员会(SAC/TC 99)归口。

本文件起草单位：北京大学口腔医学院口腔医疗器械检验中心、四川大学(四川医疗器械生物材料和制品检验中心)、上海交通大学医学院附属第九人民医院。

本文件主要起草人：韩建民、梁洁、刘昕、柴媛、吴洋、戴政宁、贾莉芳、袁曦、孙皎、任欣欣、陆华。

引 言

口腔医疗器械种类繁多,在评价与口腔接触的医疗器械的植入途径全身毒性时,根据器械或材料的特性,以及与口腔组织接触的特点具体选择试验途径和周期。大多数情况下亚急性试验植入时间为 28 d,亚慢性试验为 90 d。

口腔医疗器械生物学评价 第 19 部分： 亚急性和亚慢性全身毒性试验： 植入途径

1 范围

本文件描述了口腔医疗器械亚急性和亚慢性植入途径的全身毒性试验方法。
本文件适用于评价口腔医疗器械植入途径的亚急性和亚慢性全身毒性试验。

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。

GB/T 16886.2 医疗器械生物学评价 第 2 部分：动物福利要求
GB/T 16886.6 医疗器械生物学评价 第 6 部分：植入后局部反应试验
GB/T 16886.11 医疗器械生物学评价 第 11 部分：全身毒性试验
GB/T 16886.12 医疗器械生物学评价 第 12 部分：样品制备与参照材料
GB/T 16886（所有部分） 医疗器械生物学评价

3 术语和定义

GB/T 16886（所有部分）界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

剂量 **dose; dosage**

每单位体重或表面积给予的试验样品的量（如体积、质量）。以试验样品的表面积或质量（ cm^2 、 m^2 、 g 、 mg ），或动物单位表面积或体重接受试验样品的表面积或质量（ cm^2/m^2 、 m^2/m^2 、 mg/kg 、 g/kg ）表示。

3.2

可吸收 **degradable**

可降解 **absorbable**

材料可被生物体环境引起解体或分解产物可被细胞和/或组织同化。

4 目的与原则

4.1 目的

本试验将口腔医疗器械植入动物体内一定时间（如 28 d、90 d），测定其对实验动物的影响，以判定其是否具有潜在的亚急性或亚慢性全身毒性作用。

4.2 试验原则

在评价口腔医疗器械全身毒性特征的过程中，是否进行植入途径亚急性或亚慢性全身毒性试验宜

结合试验样品的特性(如可降解性能等)和其临床用途途径决定。

本试验植入途径开展亚急性全身毒性试验周期一般为 28 d,亚慢性全身毒性试验周期一般为 90 d,其他试验周期的选择应进行论证或说明。对体内可降解/可吸收试验样品的试验周期设定,宜充分考虑试验样品在体内的降解行为。

植入剂量宜结合试验样品临床的最大使用剂量并考虑一定的安全系数,同时也宜充分考虑实验动物可耐受的植入剂量。

试验样品的植入部位和接触的组织应尽量与临床使用部位和接触的组织一致。对植入组织的选择宜有正当的理由。常用的植入部位为皮下组织植入、肌肉植入和骨植入,如选用其他植入部位宜进行论证。必要时可选择多种途径的结合使用,但宜进行必要说明。

宜结合试验样品状态、接触途径、阴性对照和/或假手术处理对照进行亚急性/亚慢性全身毒性试验,涉及的对照样品应模拟试验样品制备和处置步骤。

试验过程中每日密切观察动物的毒性反应,期间死亡或试验结束时被处死的动物要进行尸检。

注: GB/T 16886.11 中的试验原则、GB/T 16886.12 给出的样品制备和稳定性导则适用于本文件。

5 试验方法

5.1 样品制备

5.1.1 宜尽量使用最终产品、最终产品和/或材料中的代表性组件进行试验,当因最终产品尺寸、形状等限制需制备满足植入部位的试验样品时,宜说明试验样品与最终产品的一致性。

5.1.2 试验样品的制备或准备过程宜参考产品说明书,尽量与临床使用情况一致;制样过程中样品状态可能变化的,宜充分考虑样品状态变化对试验结果以及结果解释的影响。

5.1.3 当试验样品和对照样品需要分割成特定的小片或小块时,应考虑原先没有暴露的表面(如腔或切面)的影响。将医疗器械切割成具有代表性部分的试验样品时,所用的工具宜清洁以免污染。

5.1.4 处理试验样品与对照样品时应谨防污染,如试验步骤要求对样品进行灭菌,宜考虑灭菌或再灭菌过程对试验样品和对照样品的影响。

5.2 实验动物

一般首选健康、初成年大鼠,也可选用家兔等实验动物,试验所用动物种属应经过科学论证并符合 GB/T 16886.2 规定。试验开始时,同性别动物体重之间相差不应超过平均值的 $\pm 20\%$ 。如使用雌性动物,宜未育并无孕。

动物的饲养和管理应符合有关动物管理规定,在试验前应使动物适应实验室环境。

5.3 试验组设定

每种试验样品应至少设立一个试验组和一个对照组,必要时可增设不同剂量、不同观察时间点的试验组,增设试验组时宜考虑试验样品的工作原理、预期与人体接触方式和时间、体内降解行为、达到生物应答稳态所需时间等方面。

将实验动物随机分为试验组和对照组。亚急性全身毒性试验每组实验动物(啮齿类)至少 10 只(雌雄各半),亚慢性全身毒性试验每组实验动物(啮齿类)至少 20 只(雌雄各半)。若计划在试验过程中处死动物,应增加动物数。如选用非啮齿类动物,实验动物的数量宜根据能提供有效数据所需的最少动物数来确定,应予以说明和论证。

5.4 试验剂量选择

剂量水平的设计宜考虑有关试验样品或相关材料的全部毒理学数据。为了得出明确的剂量反应关

系,一般设高、中、低三个剂量水平组。高剂量应为引起动物明显毒性反应的最低剂量,中剂量应为引起较轻的毒性反应即可观察到有毒害作用的最低剂量,低剂量组应不产生任何毒性反应,即相当于未观察到有害作用的最高剂量。亚急性/亚慢性毒性试验中如果能够确定试验样品的半数致死量(LD_{50})值,可以参考 LD_{50} 值的 $1/20 \sim 1/5$ 为最高剂量,或以急性毒性的阈剂量为该试验样品的最高剂量。

口腔医疗器械一般毒性较低,通常可考虑单剂量组试验(即限度试验),即以受试产品临床最大暴露量乘以一定的安全系数,安全系数一般不小于 50 或以动物体内最大可耐受植入量确定试验样品试验组剂量,如果安全系数低于 50,应对选择依据予以说明。根据人体临床最大暴露量和选定的安全系数,以动物质量或表面积等效换算后作为试验组试验样品植入剂量。确定动物表面积等效换算,一般认为 Meeh-Rubner 公式较为合适,具体换算公式和换算举例见附录 A。

5.5 对照设置

根据试验目的,结合试验样品状态、工作原理、人体接触途径等,可选用空白对照、假手术对照的一种或多种作为对照组。这些对照应模拟试验样品制备和处置步骤,尽量与试验组方式相同。

5.6 植入方式

5.6.1 皮下植入

一般将试验样品植入动物背部皮下组织,沿中线两侧切开皮肤,向两侧钝性分离制备一个或多个皮下囊,囊的底部距皮肤切口应为 10 mm 以上,将试验样品植入囊内,每只动物可制备多个切口。

5.6.2 肌肉植入

试验样品尺寸大小根据选取的实验动物及其肌肉群的大小确定。动物脊柱旁肌为首选植入部位,也可选用大鼠臀肌或家兔股肌。植入物沿肌纤维长轴平行植入肌内。

5.6.3 骨植入

根据试验样品植入量选择植入部位,可选择脊柱、股骨、胫骨、颌骨、颅骨等。选择脊柱模型时,沿背中线切开皮肤、肌肉,钝性分离,暴露脊柱棘突和横突,去除脊柱棘突和横突间的骨皮质,植入试验样品,逐层缝合。选择股骨、胫骨、颌骨、颅骨时,采用骨钻或环钻生理盐水冷却下,间歇钻孔,必要时可攻出螺纹,将试验样品植入制备的骨缺损处,逐层缝合。

术后镇痛剂的使用应符合 GB/T 16886.2 的要求,宜对抗生素的使用进行论证。

5.7 临床观察

亚急性全身毒性试验观察周期一般为 28 d,亚慢性全身毒性试验观察期一般为 90 d。亚慢性全身毒性试验附加组的观察时间宜考虑植入材料的降解周期,以观察降解材料在整个降解周期内的全身反应。

至少每天定时观察实验动物的临床表现,要考虑试验样品植入后预期出现反应的高峰时间。每天至少两次观察记录动物的发病和死亡情况。植入手术前及手术后至少每周一次对所有动物临床表现进行详细记录。观察宜在笼外工作台上进行,最好每天定时进行。观察记录应尽量详细,最好采用明确的记分系统。应采取相应措施使试验条件保持稳定,宜由未参与植入试验的人员(如兽医或经过相关培训的人员)进行观察。

在动物试验前和试验后,宜对所有实验动物,至少对最高剂量组和对照组动物,使用检眼镜或其他有关设备进行眼科检查。若发现动物有眼科变化则应对所有动物进行检查。

观察并记录皮肤、被毛、眼、粘膜的改变和呼吸系统、循环系统、神经系统、肢体活动、行为方式等变

化发生的时间、程度和持续时间。

观察并记录植入部位的组织反应性质和程度、持续时间以及恢复情况,包括水肿、血肿、破溃等。
如发现动物死亡或濒危应及时解剖或冷藏后解剖检查,以减少动物同类互残及死后组织自溶。
观察项目见附录 B。

5.8 体重和摄食量

所有动物至少每周称重一次,适宜时每周计算一次饲料的消耗量。

5.9 血液学检查

试验结束时进行。检查项目见附录 C。血样在处死动物前或处死动物时采集,并贮存在合适条件下。

5.10 临床生化检查

试验结束时进行。宜隔夜禁食空腹取血进行临床生化检查,检查项目见附录 C。在某些情况下还应增加检测与肝或其他器官有关的指标,如酶、胆酸等。如出现肉眼可见的器官改变,可考虑增加与之相应的血液标记物检测。

5.11 尿液检查

尿液检查不作为常规检测,仅在预期或观察到有这方面的毒性反应情况下才考虑进行。检验时在试验的最后一周内定时采集尿液(如 16 h~24 h)。检查项目见附录 C。

5.12 大体病理学

试验结束时,将全部实验动物无痛处死后进行大体尸检,包括检查体表、体表孔口、头部、胸(腹)腔、植入部位及内脏等。

应检查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,记录观察到的组织反应的性质和程度,是否存在植入物,及其形态和位置,包括可降解/可吸收材料可能的残留。

将全部实验动物(垂死的和/或中间处死的动物除外)的肝、肾、肾上腺、睾丸、卵巢、附睾、子宫、胸腺、脾、脑和心脏等取下后去除其上附着组织后尽快称量湿重,以防水分丢失。

根据受试品预期作用途径选择需进一步进行组织病理学检查的器官或组织,取下后置于适宜的固定液中。具体器官和组织见附录 D。

5.13 组织病理学

具体检查应包括:

- a) 最高剂量组和对照组所有的器官和组织进行完整的组织病理学检查;
- b) 如设有低、中剂量组,宜对动物肺脏进行组织病理学检查便于判断动物的健康状态,还宜考虑对低、中剂量组进行肝和肾的组织病理学检查,其他组织病理学检查可不必常规进行,如高剂量组动物的器官或组织有组织病理学的变化,则应检查低、中剂量组动物的相应器官和组织;
- c) 中、低各剂量组大体尸检有异常的器官和组织也应进行组织病理学检查;
- d) 被其他试验组证明可能有病变的附加组动物器官和组织也应进行组织病理学检查;
- e) 植入部位的组织反应及材料状态的组织病理学检查。

5.14 结果评价

试验结果以表格形式总结。内容包括各组动物数、在试验中死亡或被人道处死的动物数及死亡或

被人道处死的时间、出现毒性反应的动物数、观察到的毒性反应类型的描述(包括开始的时间、持续时间和严重程度)以及出现每种毒性反应动物百分比。综合临床观察、血液学、临床生化、大体病理学、组织病理学检查的结果,对试验样品在亚急性/亚慢性全身毒性试验中有无毒性作用及其毒性作用特点,包括试验样品的靶器官、蓄积毒性等作出初步评价。采用适当的统计学方法进行分析。在试验设计时选好统计学方法。

如结果显示试验样品具有潜在的全身毒性时,应对植入的试验样品及周围组织情况进行充分评估。必要时可采用一些新的检验方法,如影像学检查(micro-CT)、示踪标记等,有助于全面评估植入材料的状态及与全身组织的相互作用。

5.15 试验记录

试验记录应包括如下信息。

- a) 试验样品:
 - 名称;
 - 物理、化学性状和生物学性能;
 - 其他表征描述数据。
- b) 实验动物:
 - 种属、品系(注明合格证号和动物级别);
 - 数量、年龄和性别;
 - 来源、饲养条件、饮食等;
 - 试验开始时的体重。
- c) 试验条件:
 - 剂量、试验周期选择说明;
 - 适宜时,试验样品制备说明;稳定性和同质性说明;
 - 试验样品植入试验操作方法详细说明;
 - 饲料、水质量的详细说明。
- d) 试验结果:
 - 体重变化;
 - 若适用,饲料和水的消耗;
 - 性别和剂量水平的毒性反应数据,包括毒性体征;
 - 临床观察情况、严重程度和持续时间(不论是否为可逆性);
 - 血液学试验和结果以及相关基线数据;
 - 临床生化试验和结果以及相关基线数据;
 - 最终体重和器官重量数据;
 - 尸检发现;
 - 包括器械植入局部部位的全部组织病理学检查详细描述;
 - 结果的统计学分析。
- e) 试验讨论。
- f) 结论。

附 录 A

(资料性)

表面积等效换算依据

根据临床试验用量确定最大样品剂量,通常采用等面积或等质量换算。宜选择使用 Meeh-Rubner 公式进行等面积换算,见式(A.1)。

Meeh-Rubner 公式: $A = K \times (W^{2/3}) / 10\ 000$ (A.1)

式中:

K ——常数,随动物种类而不同,如:大鼠的 K 为 9.1,人的 K 为 10.6;

A ——体表面积,单位为平方米(m^2);

W ——体重,单位为克(g)。

注: 式(A.1)计算出来的体表面积仍是粗略估计,不一定完全符合实测数据。

附 录 B
(资料性)
常见临床症状与观察项目

常见临床症状与观察项目见表 B.1。

表 B.1 常见临床症状与观察项目

器官系统	观察及检查项目	植入后一般表现
中枢神经系统及躯体系统	行为	改变姿势,叫声异常,不安或呆滞
	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,直觉过敏或缺乏知觉
	大脑及脊髓反射	减弱或消失
	肌肉张力	僵直,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,褶皱,松弛,皮疹
	完整性	竖毛
黏膜	黏膜	流黏液,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
植入部位	—	充血、水肿、血肿、囊腔、坏死
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

附 录 C

(资料性)

推荐的血液学、临床化学和尿液检查

C.1 血液学

血液学检查如下：

- 凝血(PT、APTT)；
- 血红蛋白浓度；
- 红细胞压积；
- 血小板计数；
- 红细胞计数；
- 白细胞计数；
- 白细胞分类。

C.2 临床生化

临床检查如下：

- 白蛋白；
- 碱性磷酸酶(ALP)；
- 丙氨酸氨基转移酶(ALT)；
- 天门冬氨酸氨基转移酶(AST)；
- 钙；
- 氯化物；
- 胆固醇；
- 肌酐；
- 谷氨酰转肽酶(GGT)；
- 葡萄糖；
- 无机磷；
- 钾；
- 钠；
- 总胆红素；
- 甘油三酯；
- 尿素氮；
- 其他酶类,科学上适宜时；
- 可考虑将免疫球蛋白水平作为评价免疫毒性的指标。

C.3 尿液分析

尿液分析(定时采集,如 16 h~24 h)检查如下：

- 外观；
- 胆红素；
- 葡萄糖；
- 酮体；

- 隐血；
- 蛋白；
- 沉渣；
- 比重或渗透压；
- 体积；
- 如怀疑试验样品导致特异性器官毒性时,进行其他适宜的科学试验(采集的样品宜冷藏)。

附 录 D

(资料性)

宜进行组织病理学评价的器官

宜进行组织病理学评价的器官如下：

- 肾上腺*；
- 全部大体损害(包括试验位置)；
- 主动脉；
- 骨髓(股骨、肋骨和胸骨)；
- 脑*(有代表性的部分,包括大脑、小脑和脑桥)；
- 盲肠；
- 结肠；
- 十二指肠；
- 附睾*；
- 食管；
- 胆囊(如有)；
- 心脏*；
- 回肠；
- 空肠；
- 肾*；
- 肝*；
- 肺和支气管(经充气并浸入固定剂内保存)；
- 淋巴结(代表局部接触位置和远端全身作用的淋巴结)；
- 乳腺(雌性)；
- 肌肉(骨骼肌)；
- 鼻甲骨(用于吸入研究)；
- 神经(坐骨神经或胫骨神经,最好贴近肌肉)；
- 卵巢*；
- 胰腺；
- 甲状旁腺；
- 脑垂体；
- 前列腺；
- 直肠；
- 唾液腺；
- 精囊；
- 皮肤；
- 脊髓；
- 脾*；
- 胸骨；
- 胃；
- 睾丸*；
- 胸腺*；

- 甲状腺；
- 气管；
- 膀胱；
- 子宫*（包括子宫颈和输卵管）；
- 阴道；
- 植入材料组织。

标星号的器官、组织在进行组织病理学评价前宜称重，如需要其他器官也要称重。临床和其他发现可显示检查其他组织的必要性，而且宜根据已知的试验物质特性保存可能的靶器官。

附录 E

(资料性)

医疗器械全身毒性试验限定的组织病理学器官清单

E.1 总则

很多医疗器械使用的是常用材料,只是在化学添加剂的用量或类型、加工或灭菌方法上有所不同。

根据器械的可浸提物/可沥滤物的毒理学风险评估,如果确定需要对其潜在的全身毒性作用进行生物相容性/安全性评价,可考虑进行简化的组织病理学评价。在此模型中,采用分层方法检查限定数量的靶器官/组织。

E.2 程序

收集保存附录 D 中给出的所有组织。

限定的组织病理学分析宜包括表 E.1 列出的所有 I 层器官/组织。

如果在 I 层组织或同步进行的临床病理(临床生化和血液学)观察到有异常或可疑结果,进行 II 层分析(检查附录 D 中全部列出的器官/组织)。

表 E.1 限定组织病理学器官清单

器官系统	各系统中的脏器/组织(物种若适用)	I 层组织
循环	心脏、动脉、静脉、毛细血管、血液	心脏
消化	口、唾液腺、食管、肝脏、胃、胆囊、胰腺、肠(十二指肠、横结肠、升结肠、降结肠、回肠、空肠、盲肠、乙状结肠)、直肠、肛门	肝脏
内分泌	下丘脑、垂体、甲状腺、甲状旁腺、肾上腺、松果体、胰腺	肾上腺
排泄	肾脏、输尿管、膀胱、尿道、皮肤、肺、直肠	肾脏
体被	皮肤、皮下组织、头发、指甲	皮肤
淋巴	淋巴结、扁桃体、腺样体、胸腺、脾脏	脾脏
肌肉	二头肌、三头肌、三角肌、臀肌、腓旁腱肌、肌腱	肌肉
神经	脑、脊髓、神经、末梢神经、眼、耳	脑
生殖	卵巢、输卵管、子宫、阴道、乳腺、睾丸、输精管、精囊、前列腺、阴茎	卵巢、睾丸
呼吸	鼻、鼻腔、咽、喉气管、支气管、肺、膈	肺、支气管
骨骼	股骨、肱骨、桡骨、尺骨、颅骨、胸骨、锁骨、腓骨、胫骨、脊柱、肩胛骨、骨盆、尾椎骨、趾骨、骨髓、软骨、韧带	股骨或胸骨
造血	骨髓	股骨、肋骨或胸骨
其他	大体损伤包括受试部位	观察到的器官或组织