



中华人民共和国国家标准

GB/T 16886.6—2015/ISO 10993-6:2007
代替 GB/T 16886.6—1997

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 10993-6:2007, IDT)

2015-12-10 发布

2017-04-01 实施

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局
中国国家标准化管理委员会

发布



前 言

GB/T 16886《医疗器械生物学评价》分为以下部分：

- 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与定量框架；
- 第10部分：刺激与迟发型超敏反应试验；
- 第11部分：全身毒性试验；
- 第12部分：样品制备与参照样品；
- 第13部分：聚合物降解产物的定性与定量；
- 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：降解产物与可溶出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。

本部分为 GB/T 16886 的第 6 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分代替 GB/T 16886.6—1997《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—1997 相比，主要技术内容变化如下：

- 修改了“范围”，适用范围增加可降解和/或可吸收性材料；
- 修改了“植入试验方法通则”、“评价和试验报告”、“肌肉植入中植入样品的数量”等相关内容；
- 增加了“试验方法的基本方面”；
- 增加了“附录 A 可降解/可吸收性材料植入周期和组织反应的基本考虑”；
- 增加了“附录 E 植入后局部生物学反应评价举例”。

本部分使用翻译法等同采用 ISO 10993-6:2007《医疗器械生物学评价 第6部分：植入后局部反应试验》。

与本部分中规范性引用的国际文件有一致性对应关系的我国文件如下：

GB/T 16886.1—2001 医疗器械生物学评价 第1部分：评价与试验(ISO 10993-1:1997, IDT)

GB/T 16886.2—2000 医疗器械生物学评价 第2部分：动物保护要求(idt ISO 10993-2:1992)

GB/T 16886.11—1997 医疗器械生物学评价 第11部分：全身毒性试验(idt ISO 10993-11:1993)

GB/T 16886.12—2005 医疗器械生物学评价 第12部分：样品制备与参照样品(ISO 10993-12:2002, IDT)

GB/T 16886.6—2015/ISO 10993-6:2007

GB/T 16886.16—2003 医疗器械生物学评价 第16部分:降解产物和可溶出物的毒代动力学研究设计(ISO 10993-16:1997,IDT)

本部分由国家食品药品监督管理总局提出。

本部分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。

本部分起草单位:国家食品药品监督管理局济南医疗器械质量监督检验中心。

本部分主要起草人:由少华、黄经春、孙立魁、王昕、刘成虎、王科镭。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为:

——GB/T 16886.6—1997。

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

GB/T 16886 的本部分规定了用于评定医疗器械所用生物材料植入后局部反应的试验方法。

本部分适用于下列材料:

- 固形和非生物降解材料;
- 可降解和/或可吸收性材料;
- 非固形材料,如多孔材料、液体、膏状和颗粒材料。

试验样品植入适宜种属的动物和部位以评价材料的生物安全性,这些植入方法预期不用于评价或测定试验样品在机械或功能负荷方面的性能。GB/T 16886 的本部分可能也适用于临床上预期用于损伤表面或损伤内表面的医疗器械,以评价局部组织反应。

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,对局部作用进行评价。本部分试验方法的目的在于表征医疗器械/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,对于可降解/可吸收材料来说,尤其宜确定材料的降解特性以及所产生的组织反应。

本部分不涉及全身毒性、致癌性、致畸性或致突变性。然而,用来评价局部生物学作用的长期植入研究可提供这方面的一些信息。通过植入进行的全身毒性研究可满足 GB/T 16886 本部分的要求。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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)

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)

ISO 10993-11 医疗器械生物学评价 第 11 部分:全身毒性试验(Biological evaluation of medical devices—Part 11:Tests for systemic toxicity)

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

ISO 10993-16 医疗器械生物学评价 第 16 部分:降解产物和可溶出物的毒代动力学研究设计(Biological evaluation of medical devices—Part 16:Toxicokinetic study design for degradation products and leachables)

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

降解 degradation

材料的分解。

[ISO 10993-9:1999,定义 3.1]

3.2

降解产物 degradation product

材料由于化学裂解或材料的分解而产生的产物。

[ISO 10993-16:1997,定义 3.1]

3.3

生物材料 biomaterial

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

[摘自欧洲学会生物材料会议 II]

4 植入试验方法通则

4.1 总则

重要的是在设计试验方案时要充分详细,这样能够从所用的每只动物和每项研究中获取到全部相关信息(见 ISO 10993-2、ISO 10993-11 和 ISO 10993-16)。

所有的动物试验应在经国家认可机构批准并符合实验室动物福利全部适用法规的实验室内进行,这些试验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,并且还应符合 ISO 10993-2 的要求。

附录 B、附录 C 和附录 D 中给出的试验方法应采用本章的规定。

4.2 植入样品的制备

应按照 ISO 10993-12 制备试验样品和参照或对照材料。植入尺寸和形状应形成文件并进行论证。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。

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。

用于组织工程医疗产品的支架材料,用接种上细胞的最终产品制样可能不合适,因为动物对这种产品细胞成分的免疫反应和细胞对动物的反应可能会干扰局部组织反应。

对于合成材料(如骨水泥、牙科材料),在使用之前可能要混合组分,并可在植入前进行固化。然而,设计为在原位聚合的材料,应以原位聚合的方式予以植入。有些研究也可采用其他步骤,对所使用的步骤应形成文件并进行论证。

非固形材料(包括粉剂)可装在两端未封闭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。

注 1: 聚乙烯(PE)、聚丙烯(PP)或聚四氟乙烯(PTFE)管常用于植入试验,PE 管经高压蒸汽处理可能会变形,PTFE 管用切片机制片较困难,当管子裹在组织块中切片时最好用同尺寸的 PE 管或 PP 管代替。

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

注 2: 详细指南见 ISO 10993-12。

物理特性,比如形状特别是对照品的表面状况,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。

5 试验方法的基本方面

5.1 组织和植入部位

试验样品应植入与材料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 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 B、附录 C 和附录 D 给出试验方法的基本科学原理,并给出理由。

注 1: 特殊牙科应用试验见 YY/T 0268。

对可降解/可吸收性材料,应采用一种适当的方式标记植入部位,用于在规定的时期末识别该部位。推荐使用非侵入持久性皮肤标记和/或标记样品位置的模板。在有些情况下,可采用适宜的阴性对照来标记植入位置。特殊情况下,可采用假手术步骤来评价对有关组织的影响;这种情况应提供具体的论证。

注 2: 可吸收性试验样品植入部位识别的标记物可采用非吸收性缝合线或皮肤染料。

5.2 动物

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

大动物的应用可在研究中针对具体生物材料科学考虑的基础上进行论证。

选择的动物种属符合 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、与动物预期寿命相关的规定试验周期,以及可能存在的动物种属生物学反应差异性(见附录 B)。

对于短期试验,通常使用啮齿动物或家兔。对于长期试验,诸如啮齿动物、家兔、犬、绵羊、山羊、猪及其他平均寿命相对较长的动物比较适宜。

可降解材料在开始动物研究之前,宜考虑体外降解研究的相关信息。对于生物可降解材料,在进行大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。

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。

然而,当植入后局部反应是通过植入作为全身毒性研究的一部分时,则不宜将对照样品和试验样品植入同一只动物。

5.3 试验周期

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

对于非降解和非吸收性材料,一般评定从 1 周至 4 周的短期反应和超过 12 周试验的长期反应。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,植入后在最初两周时可能很难区分是外科手术所致的反应,还是植入物引起的组织反应。取决于动物种属和手术创伤的严重程度,植入后 9 周至 12 周时肌肉和结缔组织中细胞群呈稳定状态,骨植入则可能需要较长的观察期才能达到稳定阶段。一般来说,对可降解材料的评价试验需要达到或超过吸收终点。

对于可降解/可吸收材料,试验周期应与估计的试验产品降解时间相关。附录 A 给出了关于可降

解/可吸收材料的基本考虑。在开始动物研究和确定样品评价时间终点之前,应先进行材料降解时间的评估。可通过体外实时或加速降解试验,在某些情况下采用数学模型方法。一般情况下,对可降解材料的评价需要将试验延续到或超过材料的吸收终点。可降解材料的评价部分取决于材料的降解速率。

应对植入物各时间点与降解过程相关的局部组织反应进行评价:

- 在未降解或微降解时,一般在植入后 1 周至 12 周进行评价;
- 发生降解时;
- 达到稳定状态时,即组织修复或接近完全降解。

在未完全降解、吸收或未修复至正常组织结构或功能的情况下,所采集的全部数据可能足以表征植入后的局部反应。

注:体内降解可能需要相当长的时间,有时一年以上。植入物在预期试验期内未完全降解时,可利用附加动物延长观察期。

虽然 ISO 10993 的本部分未涉及 ISO 10993-11 给出的全身毒性的问题,但推荐从采用植入方式的任何全身毒性研究中获取符合本部分要求的信息。

表 1 给出了长期植入试验普遍认同的观察期。

宜按照 ISO 10993-2 在每一时间点处死动物。特殊情况在全身麻醉加复苏术条件下,连续取样是可以接受的,应形成文件并进行论证。

表 1 长期植入试验周期选择

动物品种	植入期/周				
	12	26	52	78	(104) ^a
大鼠	×	×	×		
豚鼠	×	×	×		
家兔	×	×	×	×	×
犬	×	×	×	×	×
绵羊	×	×	×	×	×
山羊	×	×	×	×	×
猪	×	×	×	×	×

^a 根据试验材料预期临床使用情况而定,并非所有的植入期都是必需的(见 GB/T 16886.12),104 周的观察期可视情况选择。

5.4 手术和试验条件

手术通常应在全身麻醉条件下进行,如采用其他麻醉形式应进行论证并符合 ISO 10993-2。附录 B、附录 C 和附录 D 分别描述了皮下、肌肉或骨植入的具体插入或植入步骤。

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目,应植入足够数量的植入物,以确保最终用于评价的样品数量能给出有效结果。

外科技术可极大地影响任何植入步骤的结果,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皮肤暴露部位,确保植入物或伤口表面接触不到毛发。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。

试验期间应定期观察并记录动物健康状况。术后在试验期间的适当间隔期观察每只动物,应记录任何异常迹象,包括局部、全身和行为异常,并在试验报告中描述对结果的潜在影响。

当动物出现不健康的迹象时,宜在适当的间隔期测定体重。术后镇痛剂的使用应符合 ISO 10993-2 的要求。

试验周期结束时,采用过量麻醉剂或其他符合 ISO 10993-2 原则的可接受的人道方法无痛处死动物。

5.5 评价

5.5.1 总则

通过记录不同时间点的肉眼观察结果和组织病理学反应来评价生物学反应,比较试验样品、对照样品或假手术部位的反应。

注:附录 E 和参考文献中给出了分级系统举例。

对相对应部位的每一对照和试验植入物进行比较,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在其两端的中部,带沟槽的圆柱形植入物的凹槽中央位置以及植入物的平顶端表面适合于评价。

在每一试验终点应对附录 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。

5.5.2 肉眼观察评定

应检查每一植入部位正常组织结构的变化,宜包括局部引流淋巴结的评定^[32],推荐采用低倍放大镜。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。并记录植入物的存在、形态和位置,包括可降解材料可能的残留物。大体照片应形成文件。

此外在对植入部位的检查中,一旦动物显示不健康或对植入物的反应迹象时,如适用应进行大体尸检。

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,切下植入物连带足够的未受影响的周围组织,以能够进行局部组织病理学反应的评价。如供试材料在检查部位不明显(可降解/可吸收性材料),可扩大取出部位,即可包括预期植入位置周边几个毫米的正常组织。对非降解植入物,在大体病理学预示时宜采集引流淋巴结。可降解植入物在可行的情况下宜采集引流淋巴结,因为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:目前认为不一定能定位所有样品的引流淋巴结。

如有不健康和大体病理学预示,或试验设计评价全身毒性,适用时应采集其他器官。

按照组织学评价要求的适宜步骤处理取出的组织样品,包括固定、修整、包埋、切片和染色。必要时记录植入物的方位、切片数量和组织块的几何形状。

采用常规技术时,组织包膜在接触固定液之前或之后可能是开放的,应报告植入物表面和组织床状况。小心操作避免破坏植入物/组织界面。

对植入物/组织界面处进行研究时,首选将完整组织包膜与植入物一起在原位采用硬塑料包埋,采用适宜的切片或磨片技术制备组织学切片。应确认所采用的塑料包埋技术不会明显改变界面组织。

注:对于软组织内的“软”植入物,进行组织样品处理可无需取出植入物。

5.5.4 显微镜评定

用于组织学评价的记分系统应考虑受影响部位的程度,采用定量(以微米计)或半定量(见附录 E)评价。记录植入物方位、切片数量和组织块的几何形状。

记录与植入物尺寸有关的切片定位情况。

应评定和记录的生物学反应指标包括：

- 纤维化/纤维囊腔(层厚,以微米表示)和炎症程度；
- 由组织形态学改变而确定的变性；
- 取决于与材料/组织界面的距离有关的炎性细胞类型,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的数量和分布；
- 坏死的存在、程度和类型；
- 其他组织改变,如血管形成、脂肪浸润、肉芽肿和骨形成；
- 材料参数,如破裂、和/或碎片存在、可降解材料残留物的形状和位置；
- 对于多孔和可降解植入材料,长入组织的定性和定量。

不良组织学反应应采用显微照片形成文件。

对于可降解/可吸收性材料,在试验中期或接近完全降解水平阶段检查的组织样品内宜还存在一些降解植入物的残留材料。此外,在评价组织修复至正常结构时,应评价植入部位的有代表性区域,可采用标记或模板的方式指示。

对骨内植入物,要特别关注组织与材料之间的界面。评价骨接触面积和植入物周围骨的数量以及其间存在的非钙化组织。如存在骨吸收和新骨形成要进行记录。

5.5.5 反应的评价

参考文献[17]、[18]、[25]和[26]描述了定量记分系统的例子。

半定量记分系统举例见附录 E。

此外,参考文献中给出了其他记分系统举例。

6 试验报告

试验报告应十分详细,以能够对结果作出独立的评定。报告应包括 5.1 至 5.5 中所列各项内容,另外应报告下列项目：

a) 植入样品

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、重量和形态。应给出对照样品的选择理由和植入材料的物理形态。

b) 动物和植入

——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。应报告试验条件包括饲养条件和动物饮食。应报告试验期间的全部观察结果并形成文件。

——应记录并报告植入技术,包括手术步骤、麻醉和术后止痛法、每只动物植入物的位置和数量。应报告与植入和取出有关的问题和试验期间的全部观察结果。

c) 取出和组织学步骤

——报告应包括对取出技术的描述。应记录每只动物每一观察期取出的植入物数量。

——应记录对植入物的评价,包括植入物、组织和器官的大体观察结果。应描述所采用的固定和组织学切片制备技术。

——有预示时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。

——对于可降解材料,报告应有降解程度的描述,包括材料取出时的特性(游离粒子、纤维形成、无定形凝胶、结晶度)。

d) 肉眼观察和显微镜评价

——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目测情况。适宜时,

应包括引流淋巴结的观察结果。

——报告应包括从每次组织学评价中得出的结果,适当时包括统计学分析。

e) 最终评价

报告应包括对植入后试验和对照材料局部生物学反应的比较评价。

注:当植入物的最终目的是使组织重建,则可考虑评价植入部位预期正常组织的形成情况,而不一定评价其完全降解作用。

附 录 A

(资料性附录)

关于可降解/可吸收材料植入周期和组织反应的基本考虑

可以预料的是可降解材料的组织反应与非吸收性固形材料的反应会有所不同。宜强调的是,与非吸收性材料相比,可降解材料只有在植入物完全降解并吸收后才能达到稳定状态。在达到稳定阶段之前,可降解材料与周围组织会持续相互作用,通常在降解阶段可观测到慢性炎症反应,但在植入物降解后局部组织学将恢复至正常。因此,视为“生物相容”的残余极小组织反应可能需要植入周期与材料的降解时间一样长。由于降解是一个连续的过程,并且可能会发生酸性降解产物的“爆发”性释放,因此还需要评价中期降解阶段的组织反应,用于对残留植入物及其降解产物局部不良反应的评价。

可降解材料在完全降解或达到组织学反应的稳定状态前,体内的实时降解可能需要相当长的时间周期,因此可考虑体外预降解材料植入法(如质量损失 50%或机械强度损失 50%),以模拟植入后的晚期发生状态。但是,这种探测性研究不能替代其他要求充分表征材料体内实时降解属性的植入研究。

本附录的规定也适合于评价所用可降解材料(如用于药物缓释载体、组织工程医疗产品的可降解支架、或非降解植入物的吸收性表面涂层)的局部反应。

附 录 B
(规范性附录)
皮下组织植入试验方法

B.1 适用范围

本试验方法用于评定皮下组织对植入材料的生物学反应。

本试验可用于比较不同表面结构或条件的同种材料的作用,或用于评价材料经各种处理或改性后的作用。

B.2 原则

本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。

B.3 试验样品

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

a) 片状材料应制成直径 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) 块状材料应制成直径 1.5 mm、长 5 mm、两端为圆头的试验样品。

c) 非固形试验样品(包括粉剂)应装入直径 1.5 mm、长 5 mm 的管内(见 4.2)。

B.4 实验动物和植入部位

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

每种材料和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,组织学切片应至少间距 1 cm。

在使用通用(非降解)对照材料时,可仅在一个时间点评价对照材料的反应,对此应进行论证并形成文件。

B.5 植入步骤

选择 B.5.1 和 B.5.2 步骤中的一种。

B.5.1 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。或者可在两侧植入。

注：也可采用套管针将植入物推入囊内。

B.5.2 颈部植入

采用小鼠时，在骶骨上方切一个 10 mm 长的切口，用钝器解剖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^{[23],[24]}。

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。

离开植入物一段距离用适宜的缝合线缝合植入通道，以防止植入物移动。

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

评价应考虑第 5 章的规定。

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 章中规定的项目，并应包括所选择的具体方法的理由。

附 录 C
(规范性附录)
肌肉植入试验方法

C.1 适用范围

本试验方法用于评定肌肉组织对植入材料的生物学反应。

C.2 原理

本法系将植入物插入试验动物肌肉内,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。

C.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大小来确定。

采用家兔脊柱旁肌试验时,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 10 mm、厚度 3 mm 的较大样品。

样品应制成圆形边缘,两端钝角修圆。

C.4 实验动物和植入部位

麻醉下将植入物插入动物的肌肉内,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。

注:家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家兔股肌。

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。

如需要比较的对照材料产生的反应大于最小反应时,可在试验材料的对侧部位植入另外的已知能引起最小组织反应的对照材料。

在使用通用(非降解)对照材料时,可仅在一个时间点评价对照材料的反应,对此应进行论证并形成文件。

C.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,可采用其他适用的外科植入技术。

沿肌纤维长轴平行将植入物植入肌内。

采用家兔脊柱旁肌时,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。

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

评价应考虑第 5 章规定的要求。

C.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 D
(规范性附录)
骨植入试验方法

D.1 适用范围

本试验方法用于评定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”)骨或皮质骨。

本试验可用于比较不同表面结构或条件的同种材料的作用,或用于评价材料经各种处理或改性后的作用。

D.2 原则

本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。

D.3 试验样品

D.3.1 总则

试验和对照样品的常规制备按 4.2 的规定。

D.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(如圆柱体、棒状、糊剂)。

D.3.3 试验样品尺寸

植入物尺寸根据选用的实验动物及其骨的大小来确定,中轴皮质骨内植入物应考虑下列标准尺寸:

- 家兔:直径 2 mm、长 6 mm 的圆柱状植入物;
- 犬、绵羊和山羊:直径 4 mm、长 12 mm 的圆柱状植入物;
- 家兔、犬、绵羊、山羊和猪:2 mm~4.5 mm 骨内螺钉式植入物。

D.4 实验动物和植入部位

D.4.1 实验动物

植入物应植入啮齿动物、犬、绵羊、山羊、猪或家兔的骨内,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定。另外,相同种属的非饲养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。

D.4.2 植入部位

试验和对照样品应采用相对应的解剖部位,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。非降解对照样品可仅在一个时间点进行评价,对此应进行论证并形成文件。

注:股骨和胫骨较适合,也可考虑其他部位。

植入部位的数目应按下列:

- a) 家兔每只最多应有 6 个植入部位:3 个试验样品和 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 个试验样品和 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、动物群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,特别重要的是确保植入物避开骺区或其他未发育成熟骨。

D.5 植入步骤

采用低转速并间歇地在骨上钻孔进行骨制备,操作时用生理盐水和吸引器充分灌洗,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。

暴露股骨或胫骨的皮质,钻出适量的孔用于植入样品。家兔最多制备 3 个孔,较大动物制备 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矩旋紧到位并记录该转矩。

D.6 植入周期

植入周期应符合第 5 章的规定,确保生物学组织反应达到稳定状态。

D.7 生物学反应评价

评价应考虑第 5 章规定的要求。

D.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 E

(资料性附录)

植入后局部生物学反应评价举例

参考文献(见[16]、[17]、[25]和[26])中给出了定量记分系统举例。

对于每项组织学特性评价,诸如囊肿形成、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。

下文和参考文献(见[25]、[26]、[31]、[40]和[41])中描述了这种半定量记分系统的一些例子,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。

用于可降解材料生物学评价的记分系统例子见参考文献[19]。

表 E.1 组织学评价系统举例——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	5/phf~10/phf	重度浸润	满视野
淋巴细胞	0	极少, 1/phf~5/phf	5/phf~10/phf	重度浸润	满视野
浆细胞	0	极少, 1/phf~5/phf	5/phf~10/phf	重度浸润	满视野
巨噬细胞	0	极少, 1/phf~5/phf	5/phf~10/phf	重度浸润	满视野
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——每高倍(400×)视野。

表 E.2 组织学评价系统举例——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
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裹

表 E.3 半定量评价系统举例

试验样品：

植入周期：

动物编号：	试验样品			对照样品		
炎症						
多形核白细胞						
淋巴细胞						
浆细胞						
巨噬细胞						
巨细胞						
坏死						
合计(×2)						
新血管形成						
纤维化						
脂肪浸润						
合计						
总分						
组合计						
平均值 ^a	试验(一)对照＝					
创伤性坏死						
异物碎片						
检查部位数量						
^a 用于确定下面结论中刺激等级,负差记录为零。						

^a 用于确定下面结论中刺激等级,负差记录为零。

结论：

在本试验下列情况下,试验样品判定为：

- 无刺激(0.0~2.9)；
- 轻微刺激(3.0~8.9)；
- 中度刺激(9.0~15.0)；
- 重度刺激(>15)。

与阴性对照样品比较组织反应。

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-aluminum 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 alloy*
- [6] ISO 5832-6, *Implants for surgery—Metallic materials—Part 6: Wrought cobalt-nickel-chromium-molybdenum alloy*
- [7] ISO 5832-7, *Implants for surgery—Metallic materials—Part 7: Forgeable and cold-formed cobalt-chromium-nickel-molybdenum-iron alloy*
- [8] ISO 5832-8, *Implants for surgery—Metallic materials—Part 8: Wrought cobalt-nickel-chromium-molybdenum-tungsten-iron alloy*
- [9] ISO 5834-2, *Implants for surgery—Ultra-high-molecular-weight polyethylene—Part 2: Moulded forms*
- [10] ISO 6474, *Implants for surgery—Ceramic materials based on high purity alumina*
- [11] ISO 7405, *Dentistry—Preclinical evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry—Test methods for dental materials*
- [12] ISO 10993-9 医疗器械生物学评价 第9部分: 潜在降解产物的定性和定量框架
- [13] ASTM F748, *Standard Practice for Selecting Generic Biological Test Methods for Materials and Devices*
- [14] ASTM F763, *Standard Practice for Short-Term Screening of Implant Materials*
- [15] ASTM F981, *Standard Practice for Assessment of Compatibility of Biomaterials for Surgical Implants with Respect to Effect of Materials on Muscle and Bone*
- [16] ASTM F1983, *Standard Practice for Assessment of Compatibility of Absorbable/Resorbable Biomaterials for Implant*
- [17] MHLW Notification, *Principles for Biological Safety Evaluation of Medical Devices*; IY-AKUSHIN No.0213001, 2003.02.13
- [18] Memorandum, *Guidance for Specific Biological Tests relevant to the Principles issued by the MHLW Notification No.0213001* (2003.02.13); IRYOKIKI-SHINSA No.36 (2003.3.19)
- [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.Uthoff (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.-l.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 XXII:1990, *Biological reactivity tests*, in-vivo
 - [40] WALLIN, R.F. and UPMAN, P.J., Evaluating Biological Effects, *Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering*, D.L.Wise et.al (eds), Part A, Vol 1, Ch 12, 1995, p.422
 - [41] ZOFFERATO, S., SAVARINO, L., STEA, S. and TARABUSI, C., Result of Histological Grading on 100 cases of Hip Prosthesis Failure, *Biomaterials*, 9, 1988, pp.314-318
-

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—2015/ISO 10993-6:2007

*

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 1.5 字数 40 千字

2016 年 2 月第一版 2016 年 2 月第一次印刷

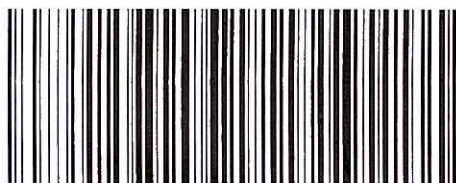
*

书号:155066·1-52137 定价 24.00 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 16886.6-2015