



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0127.15—2009

口腔医疗器械生物学评价 第2单元：试验方法 亚急性和亚慢性全身毒性试验： 经口途径

Biological evaluation of medical devices used in dentistry

Part 2: Test method

Subacute and subchronic systemic toxicity test : oral route

2009-12-30 发布

2011-06-01 实施



国家食品药品监督管理局

发 布

前 言

本标准是口腔医疗器械生物学评价系列标准中的一项标准。

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。

该系列标准的第 2 单元是口腔医疗器械具体生物试验方法。共分为如下几部分:

1. YY/T 0127. 1—93 口腔材料生物试验方法 溶血试验
2. 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
3. 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
4. YY/T 0127. 4—2009 口腔医疗器械生物学评价 第 2 单元:试验方法 骨埋植试验
5. 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
6. 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
7. 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
8. 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
9. YY/T 0127. 9—2009 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
10. 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)
11. 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
12. 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
13. 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
14. 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
15. 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
16. YY/T 0127. 15—2009 口腔医疗器械生物学评价 第 2 单元:试验方法 亚急性和亚慢性全身毒性试验:经口途径

本标准为 YY/T 0127 系列标准的第 15 部分。

本标准制定参照了 OECD guidelines for the testing of chemicals No. 407《Repeated Dose 28-day Oral Toxicity Study in Rodents》和 ISO 10993. 11《医疗器械生物学评价 第 11 部分:全身毒性试验》等标准。

附录 A、B、C 为资料性附录。

本标准由国家食品药品监督管理局提出。

本标准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。

本标准负责起草单位: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。

本标准参与起草单位:四川医疗器械生物材料和制品检验中心、上海生物材料研究测试中心。

本标准主要起草人:

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:林红、李盛林、葛兮源、郝鹏、傅嘉。

四川医疗器械生物材料和制品检验中心:梁洁、朱蔚精、袁曦。

上海生物材料研究测试中心:孙皎、黄哲玮、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亚急性和亚慢性经口全身毒性时,应根据器械或材料与口腔组织接触的时间具体选择试验周期。大多数情况下亚急性试验经口染毒时间为28d,亚慢性试验为90d。

试验时,可根据器械或材料的性质采用器械或材料的水溶液或材料浸提液进行试验。

口腔医疗器械生物学评价 第2单元:试验方法

亚急性和亚慢性全身毒性试验:经口途径

1 范围

本标准规定了口腔医疗器械亚急性和亚慢性经口全身毒性试验方法。

本标准适用于评价口腔医疗器械经口途径的亚急性和亚慢性全身毒性。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过本标准的引用而成为本标准的条款。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标准,然而,鼓励根据本标准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标准。

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)

3 目的及试验原则

3.1 目的

本试验系在一定时期内(28d至90d)将口腔医疗器械或医疗器械浸提液重复多次经口灌注动物体内,测定其对试验动物的影响,以判定其是否具有潜在的亚急性或亚慢性全身毒性作用。

3.2 试验基本原则

在评价口腔医疗器械毒性特征的过程中,是否进行经口途径重复染毒试验要根据最初进行的急性试验的毒性信息而决定。本试验为获得一定时期内反复多次经口染毒受试样品而引起的健康危害提供相关信息。重复染毒的时间亚急性全身毒性试验一般为28天,亚慢性全身毒性试验一般为90天。为了获得尽可能多的信息而要对动物进行仔细的临床观察。

染毒期间每日密切观察动物的毒性反应,期间死亡或试验结束被处死的动物要进行尸检。

4 术语和定义

4.1

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。

4.2

无可见有害作用水平 No Observed Adverse Effect Level,NOAEL

在规定的试验条件下,用现有的技术手段或检测指标未观察到任何与受试样品有关的毒性作用的最大染毒剂量。

4.3

附加组 Satellite Group

是在试验中增设的一组,该组试验动物数与其他组相同,染毒剂量与最高剂量组相同,在高剂量组染毒停止后需继续观察14d(在亚慢性试验中为28d),以研究毒性作用的可逆性、持续性和迟发效应。

5 试验方法

5.1 试样制备

5.1.1 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),或考虑使用其它介质。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。推荐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。

若受试物为材料浸提液,则按照 GB/T 16886. 12 的规定进行材料浸提液的制备。

5.1.2 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。

5.1.2.1 蒸馏水。

5.1.2.2 2%淀粉溶液 将 4g 淀粉溶于 200 mL 蒸馏水中,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。

5.1.2.3 食用纯玉米油或橄榄油。

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

5.1.2.5 0.154 mol/L 氯化钠溶液。

5.1.3 试验材料预备

5.1.3.1 固体材料

将材料冷研成或切削成粒度小于 200 μ m 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℃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。

5.1.3.2 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。

5.1.4 试样制备

水溶性材料,用 5.1.2.1 中的介质制备成 20%的水溶液。油溶性材料,用 5.1.2.3 中的介质制备成 20%油溶液。水油均难溶者可用 5.1.2.2 中的介质配成 20%混悬液。若材料不能制备成溶液、混悬液或乳浊液,或材料难以制成粒度小于 200 μ m 的颗粒,则制备材料浸提液。

5.2 试验动物

一般首选健康、初成年大鼠,适用时也可选用其他动物。如使用雌性动物,宜未育并无孕。动物体重范围为 130g $\pm$ 20g。试验开始时,同性别动物体重之间相差不得超过平均体重的 20%。在试验前至少 5d 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。

5.3 试验组设定及剂量选择

将大鼠随机分为试验组和对照组。每组试验动物至少 10 只,雌雄各半。若计划在试验过程中处死动物,应增加动物数。

每一种供试品应至少设立一个试验组和一个对照组,必要时还可增设不同剂量的试验组和一个附加组。附加组动物数与其他组相同,剂量与最高剂量组相同,在高剂量组染毒停止后继续观察 14d(亚慢性试验 28d),以研究毒性作用的可逆性、持续性和迟发效应。

如根据器械材料成分和结构方面的相关数据预期给予每天每公斤体重(bw/d)1000mg

[1000mg/kg]剂量不会出现毒性反应时,可考虑进行单剂量组试验,试验剂量为 1000mg/kg bw/d。

若无任何数据可以参考,则需进行剂量筛选试验以确定试验剂量。对照组除不接触受试样品外,其他条件应与试验组完全相同。

剂量水平的设计应考虑有关受试物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。中剂量应引起较轻的毒性反应即观察到有害作用的最低剂量。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(将无可见有害作用水平 No Observed Adverse Effect Level, NOAEL 作为最低剂量组)。

亚慢性毒性试验中高剂量选择可参考如下两个方法:如果能够确定受试物的 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受试物的最高剂量。高、中、低 3 个剂量组间距选择可参考文献[1]~[3]。

若用浸提液试验,可设定单剂量组试验。根据 GB/T 16886. 12 的要求制备浸提液,以此浸提液为试验剂量水平。对照组给服同体积的浸提介质。

5.4 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。亚急性试验每周 7d 每天给服材料,持续 28d。亚慢性试验每周 5d 每天给服材料,持续 90d。给服液体体积不超过 10mL/kg 体重。只有是水溶液时,给服体积可不超过 20mL/kg。除非是在给服高浓度刺激性或腐蚀性物质将会导致严重副作用的情况时,应调整受试样品溶液浓度使各剂量组给服体积一致。每天给服试样的时间尽量一致,必要时应根据动物体重调整给服量,使之维持在恒定的剂量水平。给服试样前需禁食过夜,不禁水。

5.5 临床观察

亚急性试验观察期为 28d,亚慢性试验观察期为 90d。亚急性试验附加组在试验结束后应继续观察 14d,亚慢性试验附加组在试验结束后应继续观察 28d,期间不进行任何处置,以观察给药后毒性作用的可逆性、持续性和迟发效应。

至少每天定时观察试验动物的临床表现,要考虑到给服后预期出现反应的高峰时间。每天至少两次记录动物的发病率和死亡率。

建议在动物试验前和试验后,最好对所有试验动物,至少应对最高剂量组和对照组动物,使用检眼镜或其它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。

第一次给药前及至少每周一次对所有动物详细记录临床表现。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,最好由非试验操作人员进行观察。

观察并记录皮肤、被毛、眼、黏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。

如发现动物死亡或濒死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 A。

5.6 体重和摄食量

所有动物至少每周称重一次。至少每周测量一次饲料的消耗量。

5.7 血液学检查

试验结束时进行血液学检查。检查项目见附录 B。血样在处死动物前或处死动物时采集,并贮存

在合适的条件下。

5.8 临床生化检查

试验结束时进行。推荐隔夜禁食空腹取血进行临床生化检查,检查项目见附录 B。在某些情况下还应增加检测与肝或其他器官有关的一些酶和胆酸。如出现肉眼可见的器官改变,可考虑增加与之相应的血清标记物检测。

5.9 尿液检查

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

5.10 大体尸检

试验结束时,将全部试验动物无痛处死后进行大体尸检,包括体表及体腔开孔、颅、胸、腹腔及其内容物等。

将全部试验动物(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、胸腺、脾、脑和心脏等取下后去除其上附着组织后尽快称量其湿质量,以防水分丢失。

根据供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 C。

5.11 组织病理学检查

检查应包括:

所有最高剂量组和对照组动物的器官或组织。

低、中剂量组,宜对动物肺脏进行组织病理学检查便于判定动物的健康状态。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要常规进行,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。

各剂量组大体尸检有异常的器官和组织。

附加组动物的被其他试验组证明有病变的器官和组织。

5.12 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的百分比。

综合临床观察、临床检查、大体尸检、组织病理学检查的结果,对受试样品在亚急性(亚慢性)全身毒性试验中无毒性作用及其毒性作用特点,包括受试样品的靶器官、蓄积毒性等做出初步评价。

采用适当的统计学方法进行分析。在试验设计时选择好统计学方法。

5.13 试验记录

试验记录应包括如下信息:

试验物质;

— 物理性质、纯度和生物化学性能;

— 其他表征描述数据。

试剂(若适用);

— 如选择水之外的试剂,进行论证。

试验动物;

- 所用动物种属、品系;
- 动物数量、年龄和性别;
- 来源,饲养条件,饮食等;
- 试验开始时的体重。

试验条件;

- 剂量选择说明;
- 适宜时,试验物质配方/制备的详细说明;达到的浓度;稳定性和同质性;
- 受试样品给服的详细说明;
- 适宜时,试验物质浓度(ppm)转换至实际剂量(mg/kg bw/d);
- 饲料、水质量的详细说明。

结果;

- 体重/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;
- 全部组织病理学检查详细描述;
- 结果的统计学分析。

结果讨论。

结论。

附 录 A
(资料性附录)
常见临床症状与观察项目

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,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
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
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 B

(资料性附录)

推荐的血液学、临床化学和尿液检查

1 血液学

- 凝血(PT、APTT)
- 血红蛋白浓度
- 红细胞容积
- 血小板计数
- 红细胞计数
- 白细胞计数
- 白细胞分类

2 临床化学

- 白蛋白
- ALP
- ALT
- AST
- 钙
- 氯
- 胆固醇
- 肌酐
- GGT
- 血糖
- 磷
- 钾
- 钠
- 总胆红素
- 总蛋白
- 甘油三酸酯
- 尿素氮
- 其他酶类,若适用
- 可考虑将总免疫球蛋白水平作为免疫毒性的指示器

3 尿液分析(定期采集,如 16h~24h)

- 外观
- 胆红素
- 尿糖
- 酮
- 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,可选用其他合适的试验(通常要求冷冻样品)

附 录 C
(资料性附录)

推荐进行组织病理学评价的器官

- 肾上腺*
- 全部大体损害(包括试验位置)
- 大动脉
- 骨髓(大腿骨、肋骨或胸骨)
- 脑*(有代表性部分,包括大脑、小脑和脑桥)
- 盲肠
- 结肠
- 十二指肠
- 附睾*
- 食管
- 眼
- 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(用于吸入试验)
- 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

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。

参 考 文 献

1. 毒理学基础. 第二版. 周宗灿主编. 北京:北京医科大学出版社,2000 年
 2. 毒理学原理与方法. 第二版. 李寿琪主编. 成都:四川大学出版社,2003 年
 3. 毒理学实验方法与技术. 第二版. 王心如主编. 北京:人民卫生出版社,2007 年
-

中 华 人 民 共 和 国 医 药
行 业 标 准
口腔医疗器械生物学评价
第 2 单元:试验方法
亚急性和亚慢性全身毒性试验:
经口途径

YY/T 0127.15—2009

*

中国医药科技出版社出版发行
北京市海淀区文慧园北路甲 22 号
邮政编码:100082

网址 www.cmstp.com

电话:发行:010—62227427 邮购:010—62236938

三河市腾飞印务有限公司印刷

各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 1.25 字数 29 千字

2011 年 5 月第一版 2011 年 5 月第一次印刷

*

书号:145067·71 定价 20.00 元

如有印装差错 由本社发行部调换

版权专有 侵权必究

举报电话:(010)62214756