

YY/T 1293.6 《接触性创面敷料 第6部分 贻贝粘蛋白敷料》

行业标准编制说明

一、工作简况

1. 任务来源

根据食药监办械管〔2019〕23号文《国家药监局综合司关于印发2019年医疗器械行业标准制修订项目计划的通知》的安排，由全国医用卫生材料及敷料技术归口单位（山东省医疗器械产品质量检验中心）负责归口制定行业标准YY/T 1293.6《接触性创面敷料 第6部分 贻贝粘蛋白敷料》（项目号：N2019073-JN）

2. 标准体系

YY/T 1293《接触性创面敷料》，由以下部分组成：

- 第1部分：凡士林纱布；
- 第2部分：聚氨酯泡沫敷料；
- 第4部分：水胶体敷料；
- 第5部分：藻酸盐敷料；
- 第5部分：藻酸盐敷料；
- 第6部分：贻贝粘蛋白敷料；

本部分为YY/T 1293的第6部分。

3. 工作过程

接到任务后，归口单位秘书处及时组建工作组（见表1），并于2019年1月4日制定了该标准的工作计划并发放给各成员单位。根据工作计划安排，在归口单位秘书处的组织下于2019年3月1日在江阴市（江阴贝瑞森生化技术有限公司）召开了YY/T 1293.6制定工作的首次工作组会议，确定了标准体系及框架/标准内容和下一步的工作安排。随着标准制定工作的推进，起草和验证工作已接近尾声，经济南中心组织各工作组成员单位于2019年5月24日在山东中心视频室召开了YY/T 1293.6第二次工作组视频会议，工作组成员单位均派代表参加了会议，其中山东中心物理室、化学室、生物室和标准室相关人员也出席了会议。视频会议上，首先各起草单位分别汇报各自的验证情况，并总结了验证过程中遇到的问题；然后就本标准的范围进行进一步的讨论和确认；还结合标准中的物理、化学、微生物、生物等性能的验证情况以及验证过程中发现的焦点问题等进行了深入的交流和讨论，最后在总结了现阶段的工作情况的基础上对下一步的工作计划进行了确认和推进。

表1 YY/T 1293.6 起草工作组成员

起草、验证单位（暂不考虑排序）	联系人/起草人
中国食品药品检定研究院	王硕
江阴贝瑞森生化技术有限公司	顾铭
山东省医疗器械产品质量检验中心	彭健、刘斌、孙令骁等

在以上工作的基础上，工作组 7 月完成了征求意见稿及相关附件，并于 2019 年 7 月 15 日向全国各地的生产企业、检验、审评、科研、临床等各有关单位和技术归口单位工作组的全体成员单位广泛征求意见（为期两个月）。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的论据

生物医用材料是以医疗为目的的用于诊断、治疗、修复或替代人体组织器官或增进其功能的材料。国家食品药品监督管理总局 (CFDA) 于 2014 年 6 月 1 日正式颁布实施了《医疗器械监督管理条例》。与条例相配套 CFDA 制定了《医疗器械注册管理办法》和《创新医疗器械特别审批程序(试行)》，进一步细化和完善了医疗器械审评审批要求，为我国企业研发新型医疗器械，包括医用生物材料提供了新的机遇。

多酚类蛋白是由某些海洋无脊椎动物产生一小类蛋白质的统称。这些蛋白的出现通常与其作为生物粘合剂材料的功能有关。贻贝粘蛋白 (mussel adhesive protein, MAP) 就是一种典型的多酚类单一蛋白生物材料。由于分子中赖氨酸及多巴基团的存在，可形成带有正电荷的膜或支架，通过静电相互作用吸引带负电荷的表皮细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞、神经细胞等的贴壁和爬行替代，促进创面的愈合。作为新型生物创面敷料已在临床得到了应用。然而，贻贝粘蛋白标准化研究相对落后，国内外尚无针对这类材料的标准和产品行业标准，现有的接触性敷料标准中的方法也不适用于此类敷料评价，使这类产品在上市放行和临床使用上存在潜在的风险。

1. 产品介绍

贻贝粘蛋白提取自紫贻贝 (blue mussel, *Mytilus edulis*) 的足丝腺，贻贝粘蛋白与高等植物细胞壁中的伸展蛋白 (在糖链间起连接作用) 很相似，是属于糖蛋白类型的一种粘液蛋白，具有超强的黏着性能。贻贝粘蛋白分子由 70-90 个重复的多肽片段组成，其中 20% 的氨基酸为赖氨酸。这使得蛋白具有较高的等电点，在人体生理 pH 值下每个贻贝粘蛋白分子带 150 以上正电荷。另外，贻贝粘蛋白肽链片段中有 10% 的 DOPA 基团 (3,4-二羟基苯丙氨酸)。在 pH 值 5 及以下，蛋白溶液可以稳定存。但在 pH 值较高的情况下，DOPA 中的一些酚羟基氧化成醌，这一过程在儿茶酚氧化酶存在下会被加速。氧化的 DOPA 和未氧化的 DOPA 交联，形成高分子网状聚合物 (图 1)。

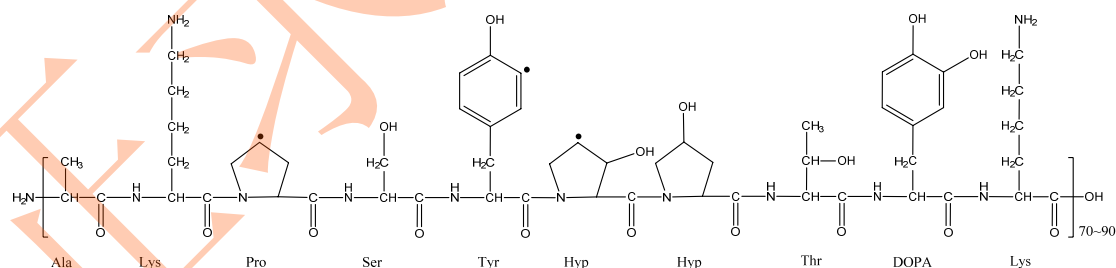


图 1 贻贝粘蛋白肽链重复片段

通过贻贝粘蛋白的结构特征和应用可以看出，贻贝粘蛋白由于赖氨酸及多巴基团的存在，可形成带有正电荷的膜或支架，通过静电相互作用吸引带负电荷的表皮细胞、成纤维细胞、血管内皮细胞、神经细胞等的贴壁和爬行替代，促进创面的愈合。以贻贝粘蛋白为主要原料的产品具有来源广泛、低免疫原性、生物相容性好、易和带负电荷的细胞发生相互作用等优点，作为新型生物创面敷料已在临床得到了应用。

目前市场上见到的贻贝粘蛋白创面敷料产品从剂型上有液体剂、水凝胶剂和覆膜凝胶剂，适用范围包括皮肤浅表性创面、粘膜浅表性创面等。

2. 制定行业标准的意义

由于贻贝粘蛋白敷料形式的多样性，无论使用哪种制剂形式都必须满足基本使用要求，并且保证使用的安全性。作为一种应用越来越广泛的生物材料，贻贝蛋白标准化工作相对落后。国内外尚无针对这类材料的行业标准。使得这类产品的技术规范随意性较强，长此以往既不利于保证贻贝蛋白材料或含贻贝蛋白产品的临床使用安全性，也不利于促进相关产业的健康发展。因此有必要建立贻贝粘蛋白敷料的行业标准，规范产品质量和生产过程，保证产品在临床使用的安全性和有效性。

3. 制定本标准的主要参考文献

GB/T 16886.1 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（GB/T 16886.1-2011，ISO 10993-1：2009，IDT）

GB/T 16886.5 医疗器械生物学评价 第5部分：体外细胞毒性试验（GB/T 16886.5-2003，ISO 10993-5：2009，IDT）

YY/T 0615.1 标示“无菌”医疗器械的要求 第1部分：最终灭菌医疗器械的要求（YY/T 0615.1-2007，EN 556-1：2001，IDT）

YY/T 0615.2 标示“无菌”医疗器械的要求 第2部分：无菌加工医疗器械的要求（YY/T 0615.2-2007，EN 556-2：2003，IDT）

Specific Detection of Quinoproteins by Redox-cycling Staining. The Journal of Biological Chemistry 1991, 266: 689-692.

Sander Haemers, Mieke C. van der Leeden, Gert Frens. Coil dimensions of the mussel adhesive protein Mefp-1. Biomaterials 2005, 26: 1231-1236

Peter A. Suci, Gill G. Geesey. Influence of Sodium Periodate and Tyrosinase on Binding of Alginate to Adlayers of Mytilus edulis Foot Protein 1. Journal of Colloid and Interface Science 2000, 230, 340-348

Bruce P. Lee, P.B. Messersmith, J.N. Israelachvili, J.H. Waite. Mussel-Inspired Adhesives and Coatings. Annu. Rev. Mater. Res. 2011, 41, 99-132

S. Haemers, M.C. van der Leeden, E.J. Nijman, G. Frens. The degree of aggregation in solution controls the adsorbed amount of mussel adhesive proteins on a hydrophilic surface. Physicochemical and Engineering Aspects 2001, 190: 193-203

《中华人民共和国药典》2015版

GB/T 1.1-2009 标准化工作导则 第1部分：标准的结构和编写

三、主要实验（或验证）的分析、综述报告、技术经济论证、预期的经济效果

具体验证结果及分析见验证报告，以下为标准技术内容的说明（条款号同标准）。

1 范围

本标准规定了贻贝粘蛋白敷料的通用技术要求，包括对各组成分和最终产品的物理、化学和生物性能的技术要求和试验方法。

本标准适用于以贻贝粘蛋白为主成分的液体剂、凝胶剂等创面修复产品的研发、制备和质量管理，不适用于以贻贝粘蛋白为辅助成分，搭载在其它接触性敷料的产品。

目前市场见到的含有贻贝粘蛋白成分的敷料多为液体，一般无固体的承载，如瓶装的液体或凝胶，使用时配合特有喷头设计，以按压的方式喷出给药。随着技术的发展，将来若出现在固体上承载贻贝粘蛋白成分的敷料，以及多重功能复合的含有贻贝粘蛋白成分的敷料，制造商可基于风险评定参照执行本标准。

2. 分类

市场上贻贝粘蛋白敷料种类很多,本标准按照临床适应症、剂型和规格将贻贝粘蛋白敷料进行分类。

3 要求

3.1 外观

该指标属于产品物理外观限定,产品中以注射用水为主,添加贻贝粘蛋白和其他辅料,以药典中0904可见异物检查法进行试验,外观应无可见异物。

3.2 鉴别

贻贝粘蛋白是目前能够检索到的唯一含有多巴基团的大分子蛋白质,而多巴基团可被氯化硝基四氮唑蓝(NBT)特异性染色。贻贝粘蛋白的鉴别选用NBT染色法,将贻贝粘蛋白吸附到具有吸附性的膜上然后用NBT进行染色。同时,为了区分含小分子多巴类成分,样品吸附到膜上之后,采用超声清洗的方法,小分子多巴由于不具备吸附性,可以从膜上清除,而贻贝粘蛋白由于具有吸附特性会保留在膜上而被染色。

3.3 装量

对于不同规格型号的样品应符合2015版《中华人民共和国药典》四部 0942的要求。

3.4 蛋白含量

贻贝粘蛋白作为材料性蛋白,具有累积的属性,即贻贝粘蛋白的作用依靠蛋白的质量而非浓度。当采用低浓度贻贝粘蛋白敷料时,采用多次喷涂的方法可以达到与高浓度贻贝粘蛋白敷料相同的效果。因此,贻贝粘蛋白敷料按照浓度分为0.2mg/ml(g)、0.5mg/ml(g)和1.5mg/ml(g)三种浓度规格。

通过对比2015版《中华人民共和国药典》四部0731蛋白含量测定法中的福林酚法、BCA法、考马斯亮蓝法和紫外-可见分光光度法,福林酚法检测贻贝粘蛋白具有更高的准确度和精密度,选用福林酚法作为贻贝粘蛋白敷料中蛋白含量的检测方法。为了满足产品的使用效果,产品中贻贝粘蛋白的含量不应小于标示值的90%,粘蛋白含量超过标示值并不会给患者带来安全隐患。

如产品中含有对蛋白测定干扰的物质,需对方法的适用性进行验证和确认,视情况可采用经验证的等效方法进行试验。

3.5 酸碱度

从现有的文件检索和已上市的产品pH值均偏弱酸性,而且产品偏弱酸性可以抑制伤口周围的细菌生长,同时能够促进创面的愈合,贻贝粘蛋白属于碱性蛋白,在酸性条件下稳定,其试验环境pH通常在1.8-4.5之间^[1,2]。贻贝粘蛋白在溶液中为开放的无定形结构,并且结构中含有大量的3,4-二羟基苯丙氨酸(DOPA),DOPA的存在使蛋白易于氧化,尤其在高pH值下会加速氧化。有文献报道,在pH5.5的条件下,可观察到贻贝粘蛋白的氧化^[3]。当pH值由4.5上升到6.5,氧化引起的蛋白聚集会非常明显^[4]。

作为试剂出售的BD公司的贻贝粘蛋白CELL-TAK长期保存溶剂条件是5%乙酸溶液。而作为医疗器械产品,乙酸溶剂残留应不超过0.5%,对不同乙酸浓度及对应的pH值进行测定,结果见表2。同时考虑到在皮肤表面使用的产品,为避免产生皮肤刺激pH通常控制在3.5-8.5之间,pH值过高或过低,对皮肤或者破损皮肤都容易造成刺激。

综上,选用0.05%乙酸(pH3.8)和注射水(pH5.8)作为溶剂,考察了贻贝粘蛋白在其

中的长期稳定性，证明在 pH3.8-5.8 范围内，贻贝粘蛋白是稳定的。因此综合以上因素产品的酸碱度定为：pH 为 3.8~5.8。

pH 值的测定方法采用 2015 版《中华人民共和国药典》 四部 0631pH 值测定法。

表 2 不同乙酸浓度对应的 pH 值

乙酸浓度（%）	pH 值
5	2.40
2.5	2.70
1	2.93
0.5	3.15
0.25	3.35
0.1	3.45
0.05	3.80
注射水	5.80

3.6 重金属

贻贝粘蛋白提取自海洋生物紫贻贝，有必要对产品中残留的重金属含量进行控制。按照 2015 版《中华人民共和国药典》 四部 0821 重金属检查法第二法进行检验，重金属含量应不超过 10 μ g/g。

3.7 无菌或微生物限度

贻贝粘蛋白敷料的无菌供应组件应符合 YY/T 0615.1 的要求。

非无菌供应的产品，根据预期给药途径应符合 2015 版《中华人民共和国药典》 四部 1107 微生物限度的要求。

3.8 细菌内毒素

贻贝粘蛋白敷料用细菌内毒素检查用水浸提，浸提条件为（37±1）℃，（1±0.1）h，取浸提液按照《中华人民共和国药典》中规定的细菌内毒素检查法进行试验，无菌供应的贻贝粘蛋白敷料的细菌内毒素含量应小于 20EU/件。

4. 生物相容性

贻贝粘蛋白的生物相容性试验项目包括热原试验、细胞毒性试验、刺激反应、致敏试验、遗传毒性试验、植入试验、免疫原性、急性全身毒性试验和致癌性等，具体试验项目应按照 GB/T16886.1 总则，依用途而定，以满足贻贝粘蛋白的临床使用的安全性要求，标准中不规定具体试验要求。

四、采用国际标准和国外先进标准的程度，以及与国际、国外同类标准水平的对比情况，或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况

迄今为止，国内外贻贝粘蛋白敷料目前尚无国际标准和其他国家标准。

五、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系。

本部分与有关的现行法律、法规和强制性国家标准无冲突和交叉。

六、重大分歧意见的处理经过和依据。

无

七、行业标准作为强制性行业标准或推荐性行业标准的建议

建议本标准作为推荐性行业标准上报、实施。

八、贯彻行业标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法、实施日期等内容）

标准发布后，秘书处挂靠单位-济南中心将在标准实施日期前采用在网页上开辟该标准宣贯专栏、召开标准宣贯会等形式对该标准的技术内容进行宣贯。通过这些措施，该标准在发布之日后 12 个月的过渡期内，足以完成其贯彻和实施。

九、 废止现行有关标准的建议。

无

十、 其他应予说明的事项。

无

标准起草工作组
2019 年 7 月 14 日