

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0127.19—20XX

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

（征求意见稿）

（本稿完成日期：2022-09-20）

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 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。

本文件由国家食品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：

本文件主要起草人：

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，应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 28d，亚慢性试验为 90d。

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

本文件规定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 16886.6 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：样品制备与参照样品

3 目的与原则

3.1 目的

本试验将口腔医疗器械植入动物体内一定时间（如 28d, 90d），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应结合试验样品的临床应用途径和其特性决定，如可降解性能等。

本试验植入途径开展亚急性全身毒性试验周期一般为 28 天，亚慢性全身毒性试验周期一般为 90 天，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，应充分考虑试验样品在体内的降解行为。

植入剂量应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，同时也应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。对植入组织的选择应当有正当的理由。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应进行论证。必要时可选择多种途径的结合使用，但应进行必要说明。

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 给出的试样制备和稳定性导则适用于本文件。

4 术语和定义

GB/T 16886.6、GB/T 16886.11界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

4.1

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重量（ 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重量（ cm^2/m^2 、 m^2/m^2 、 mg/kg 、 g/kg ）。

4.2 可吸收/可降解

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。

5 试验方法

5.1 试样制备

5.1.1 应尽量使用最终产品、最终产品和/或材料中的代表性组件进行试验，当因最终产品尺寸等限制需制备满足植入部位的试验样品时，应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应参考产品说明书，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，应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。用于将医疗器械切割成具有代表性部分的试验样品是所用的工具应清洁以免污染。

5.1.2 处理试验样品与对照样品时应谨防污染，如试验步骤要求灭菌试验样品，应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 试验动物

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得超过平均值的 $\pm 20\%$ 。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，在试验前至少 5d 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、在体降解行为、达到生物应答稳态所需时间等方面。

将试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试验动物（啮齿类）至少 10 只（雌雄各半），亚慢性全身毒性试验每组试验动物（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，试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

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，安全系数一般可选用 20~100，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。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详见附录 A。

剂量水平的设计应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 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。高、中、低 3 个剂量组间距选择可参考文献[1~5]。

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、假手术对照和/或参照器械组中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。

5.5 植入方式

5.5.1 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 10mm 以上，将试验样品植入囊内，每个动物可制备多个切口。

5.5.2 肌肉植入

试验样品尺寸大小根据选取的试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大腿肌。植入物沿肌纤维长轴平行植入肌内。

5.5.3 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，将试验样品植入到制备的骨缺损处，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。

5.6 临床观察

亚急性全身毒性试验观察周期一般为 28d，亚慢性全身毒性试验观察期一般为 90d。亚慢性全身毒性试验附加组的观察时间应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。

至少每天定时观察试验动物的临床表现，要考虑到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。

植入手术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、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。

观察项目参见附录B。

5.7 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。

5.8 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。

5.9 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 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，如酶和胆酸等。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。

5.10 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 16h~24h）。检查项目参见附录 C。

5.11 大体病理学

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变化，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能和程度，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、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。具体器官和组织参见附录 D。

5.12 组织病理学

具体检查应包括：

a) 所有最高剂量组和对照组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。

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。

5.13 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、临床病理学、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，对全面评估植入材料的状态及与全身组织相互作用是有用的。

5.14 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) 试验动物

—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及举例

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。对于片状试验样品，如采用等质量换算，在产品称重操作中易引起样品污染，为了保证产品的无菌性，推荐选择使用 Meeh-Rubner 公式进行等面积换算。(补充参考文献)

Meeh-Rubner 公式： $A=k(W^{2/3})/10000$

式中 A 为体表面积，以 m^2 计算；W 为体重，以 g 计算。

注：此公式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。

如：大鼠 K 为 9.1，人 K 为 10.6。

附录 B

(资料性)

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

- 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

- 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
- 谷氨酰转移酶 (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 尿素分析 (定时采集, 如 16h~24h)

- 外观
- 胆红素
- 尿糖
- 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 (通常采集的样品要求冷藏)

附录 D
(资料性)

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）
- 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。

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、毒理学原理和方法. 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
 - 4、新药长期毒性实验的剂量设计. 袁伯俊, 顾长虹. 上海: 国外医学. 药学分册, 1997 年
-