

医疗器械 生物学评价 标准汇编

中国标准出版社第一编辑室 编

-65



中国标准出版社

医疗器械生物学评价标准汇编

中国标准出版社第一编辑室 编

中国标准出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

医疗器械生物学评价标准汇编/中国标准出版社第一
编辑室编. —北京: 中国标准出版社, 2003

ISBN 7-5066-3241-1

I. 医… II. 中… III. 医疗器械-生物学-评价
-标准-汇编-中国 IV. TH77-65

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2003) 第 065523 号

中国标准出版社出版

北京复兴门外三里河北街 16 号

邮政编码: 100045

电话: 68523946 68517548

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷

新华书店北京发行所发行 各地新华书店经售

开本 880×1230 1/16 印张 20 字数 573 千字

2003 年 10 月第一版 2003 年 10 月第一次印刷

*

印数 1—1 500 定价 58.00 元

网址 www.bzchs.com

版权专有 侵权必究

举报电话: (010) 68533533

编 者 的 话

随着现代科学技术的发展,医疗器械在全球范围内发展迅猛,大量新型的医疗器械产品广泛应用于临床。在造福人类的同时,因某些产品材质选用不当,或受各种加工残留物的影响,也带来一系列不容忽视的对人体的生物学危害问题。为了保障医用器械在临床使用的安全有效,临床前的医疗器械生物学评价及评价方法的全球统一引起了世界各国政府及医疗器械生物学专家的高度重视。我国政府主管部门十分重视医疗器械生物学评价工作,相继发布了一系列有关医疗器械生物学评价方面的标准。为方便广大读者使用这些标准,现将 2003 年 6 月底之前发布的国家标准、行业标准 29 项汇编成册。

本书是医疗器械生产企业、质量检测机构、行业管理部门以及医疗器械使用部门必不可少的工具书。

中国标准出版社第一编辑室

2003 年 7 月

目 录

GB/T 16175—1996	医用有机硅材料生物学评价试验方法	1
GB/T 16886.1—2001	医疗器械生物学评价 第1部分:评价与试验	20
GB/T 16886.2—2000	医疗器械生物学评价 第2部分:动物保护要求	33
GB/T 16886.3—1997	医疗器械生物学评价 第3部分:遗传毒性、致癌性和生殖毒性试验	40
GB/T 16886.4—2003	医疗器械生物学评价 第4部分:与血液相互作用试验选择	50
GB/T 16886.5—2003	医疗器械生物学评价 第5部分:体外细胞毒性试验	80
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	89
GB/T 16886.7—2001	医疗器械生物学评价 第7部分:环氧乙烷灭菌残留量	102
GB/T 16886.9—2001	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	133
GB/T 16886.10—2000	医疗器械生物学评价 第10部分:刺激与致敏试验	141
GB/T 16886.11—1997	医疗器械生物学评价 第11部分:全身毒性试验	174
GB/T 16886.12—2000	医疗器械生物学评价 第12部分:样品制备与参照样品	186
GB/T 16886.13—2001	医疗器械生物学评价 第13部分:聚合物医疗器械的降解产物的定性 与定量	197
GB/T 16886.14—2003	医疗器械生物学评价 第14部分:陶瓷降解产物的定性与定量	208
GB/T 16886.15—2003	医疗器械生物学评价 第15部分:金属与合金降解产物的定性与定量	219
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	233
YY/T 0127.1—1993	口腔材料生物试验方法 溶血试验	245
YY/T 0127.2—1993	口腔材料生物试验方法 静脉注射急性全身毒性试验	248
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	251
YY/T 0127.4—1998	口腔材料生物学评价 第2单元:口腔材料生物试验方法 骨埋植试验	254
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	257
YY/T 0127.6—1999	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	262
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	266
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	271
YY/T 0127.9—2001	口腔材料生物学评价 第2单元:口腔材料生物试验方法 细胞毒性试验: 琼脂覆盖法及分子滤过法	276
YY/T 0127.10—2001	口腔材料生物学评价 第2单元:口腔材料生物试验方法 鼠伤寒沙门氏 杆菌回复突变试验(Ames 试验)	283
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	291
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	296
YY/T 0268—2001	牙科学 用于口腔的医疗器械生物相容性临床前评价 第1单元:评价与试验 项目选择	300

前 言

本标准在制订过程中参考借鉴有关国际标准和国内外先进标准,对多种医用有机硅材料进行了实验验证。本标准第2、3、5、6、7、8、9章参照采用ISO 10993《医疗器械生物学评价》系列标准,其余部分参考国内外先进标准综合制定而成。这些试验方法基本可以满足对医用有机硅材料的生物学评价需求。对于特殊用途材料的生物学评价,可参考本标准在选择指南中规定的补充生物学评价试验项目及试验基本要求,按照有关国内外标准进行评价。

本标准由国家医药管理局提出。

本标准由国家医药管理局医用高分子产品质量检测中心归口。

本标准起草单位:国家医药管理局医用高分子产品质量检测中心、上海生物材料研究测试中心。

本标准主要起草人:由少华、薛淼、刘秦玉、孙皎、王昕、顾国珍。

中华人民共和国国家标准

医用有机硅材料生物学评价试验方法

GB/T 16175—1996

Organic silicon material for medical use—
Biological evaluation test methods

1 范围

本标准规定了医用有机硅材料的生物学评价试验方法。

本标准适用于医用有机硅材料的生物学评价。其他医用材料亦可参照采用。

2 试验选择指南

2.1 医用有机硅材料按其在临床使用部位和接触时间分类,按表 1 选择生物学试验项目。

2.2 表 1 所列生物学试验不能满足材料生物学评价需求时,按表 2 选择补充评价试验项目。对于可能影响机体生殖功能的材料,应补充做生殖和发育毒性;对可能在体内降解的材料应做生物降解试验。

注:表 2 所列补充评价试验项目本标准未规定试验方法,可参照有关国际标准或国外标准进行评价。

2.2.1 亚慢性毒性:该试验测定在大于 24 h 但不超过试验动物寿命的 10% 的时间内,试验材料或浸提液一次或多次作用的影响。试验应与实际使用情况相一致。

2.2.2 遗传毒性:该试验用哺乳或非哺乳动物细胞培养技术测定材料或浸提液引起的基因突变、染色体结构和数量的变化,以及对 DNA(脱氧核糖核酸)的影响或其他遗传毒性。

2.2.3 慢性毒性:该试验是在不少于试验动物寿命的 10% 的时间内,一次或多次将材料浸提液作用于试验动物,测定对动物的影响。试验应与实际使用情况相一致。

2.2.4 致癌性:该试验是在试验动物的寿命期内,一次或多次将材料或浸提液作用于动物,测定其致肿瘤性。试验应与实际使用情况相一致。

2.2.5 生殖和发育毒性:该试验评价材料或浸提液对生殖功能、胚胎发育及胎儿和早期婴儿发育的潜在影响。

2.2.6 生物降解:该试验测定材料或浸提液的滤出物或降解物的吸收、分布、生物转化和消除过程。

表1 医用有机硅材料生物学试验项目选择

材料分类		生物学试验项目										
接触部位		接触时间： A 一时接触(≤24 h) B 短、中期接触 (>24 h~30 d) C 长期接触(>30 d)	细胞 毒性 试验	过敏 试验	皮内 刺激 试验	原发 性皮 肤刺 激试 验	口腔 粘膜 刺激 试验	眼刺 激试 验	急性 全身 毒性 试验	溶血 试验	热原 试验	植入 试验
表面接触	皮肤	A	×	×	×	×						
		B	×	×	×	×						
		C	×	×	×	×						
	粘膜	A	×	×	×		×	×				
		B	×	×	×		×	×				
		C	×	×	×		×	×				
	损伤表面	A	×	×	×							
		B	×	×	×							
		C	×	×	×							
体外至体 内接触	间接与 血液流路	A	×	×	×				×	×	×	
		B	×	×	×				×	×	×	
		C	×	×					×	×	×	
	组织 /骨/牙	A	×	×	×							
		B	×	×								×
		C	×	×								×
	循环血液	A	×	×	×				×	×	×	
		B	×	×	×				×	×	×	
		C	×	×	×				×	×	×	
体内植入	组织/骨	A	×	×	×							
		B	×	×								×
		C	×	×								×
	血液	A	×	×	×				×	×	×	×
		B	×	×	×				×	×	×	×
		C	×	×	×				×	×	×	×

注：×为应选择项目。

表 2 补充生物学评价试验项目选择

材料分类			生物学试验项目					
接触部位		接触时间： A 一时接触(≤24 h) B 短、中期接触 (>24 h~30 d) C 长期接触(>30 d)	亚慢性 毒性	遗传毒性	慢性毒性	致癌性	生殖和 发育毒性	生物降解
表面接触	皮肤	A						
		B						
		C						
	粘膜	A						
		B						
		C	×	×				
	损伤表面	A						
		B						
		C	×	×	×	×		
体外至体内接触	间接与 血液流路	A						
		B						
		C	×	×	×	×		
	组织 /骨/牙	A						
		B		×				
		C		×		×		
	循环血液	A						
		B		×				
		C	×	×	×	×		
体内植入	组织/骨	A						
		B		×				
		C		×	×	×		
	血液	A						
		B		×				
		C	×	×	×	×		
注：×为应选择项目。								

3 材料浸提液制备方法

3.1 浸提容器

3.1.1 浸提应在一洁净、化学惰性的封闭容器中进行,容器内顶部空间尽量小并保证安全性。

3.1.2 浸提应在防止供试品污染的条件下进行。

3.2 浸提条件

3.2.1 浸提温度、时间和设备按实际使用情况选择表 3 所列条件的一种。

表 3 浸提条件

浸提温度,℃	浸提时间,h	浸提设备
37±1	24±2	电热恒温培养箱
37±1	72±2	电热恒温培养箱
50±2	72±2	电热恒温培养箱
70±2	24±2	电热恒温干燥箱
121±2	1±0.2	电热蒸汽灭菌器

3.2.2 供试品表面积或重量与浸提介质比例按表 4 规定。

表 4 供试品表面积或重量与浸提介质的比例

供试品厚度,mm	表面积或重量与浸提介质体积比例
≤0.5	6 cm ² /mL
>0.5~1.0	3 cm ² /mL
>1.0	1.25 cm ² /mL
不规则形状	0.2 g/mL

3.2.3 根据试验的不同需求选择下列浸提介质:

a) 极性液体:水,生理盐水,无血清液体培养基;

b) 非极性液体:新鲜提纯的植物油(如棉籽油或芝麻油);

c) 其他浸提液体:5%(V/V)乙醇水溶液,5%(V/V)乙醇生理盐水溶液,聚乙二醇 400(稀释至生理渗透压),二甲亚砜和含血清液体培养基。

3.2.4 将供试品用自来水、蒸馏水依次冲洗干净后滤纸吸干,切成 5 mm×30 mm 条状,置浸提容器内,按规定量加入浸提介质,使液体浸没供试品。

3.2.5 浸提液制备后存放应不超过 24 h。

4 细胞毒性试验(细胞增殖度法)

4.1 方法提要

本试验是将一定量的材料或浸提液加入细胞培养液中培养细胞,通过对细胞生长和增殖的影响来评价材料对细胞的潜在毒性作用。

4.2 试验样品的制备和要求

4.2.1 将材料薄片(厚度≤1 mm)用肥皂水清洗,重蒸馏水洗涤,滤纸吸干,医用不锈钢丝悬吊,高压蒸汽灭菌或用紫外线灯照射灭菌 3 h(正反两面各 1.5 h)。

4.2.2 阳性对照:64 g/L 苯酚溶液。

4.2.3 阴性对照:含医用不锈钢丝的空白管。

4.3 细胞株

推荐使用 L-929 细胞(小鼠成纤维细胞),试验用细胞为传代 48~72 h 生长旺盛的细胞。

4.4 培养基与试剂

4.4.1 Eagle's MEM 加入 10%(V/V)小牛血清。

4.4.2 磷酸盐缓冲液(P.B.S)

无钙镁的磷酸盐缓冲液	100.0 mL
酚红溶液	10.0 mL
200 g/L 氯化镁溶液	0.5 mL
100 g/L 氯化钙溶液	1.0 mL
水	加至 1 000 mL

4.5 试验步骤

4.5.1 细胞悬液制备:用细胞培养基配制 4 万个/mL 细胞悬液分注于试管内(1 mL/管),阴性对照组 13 管(1 管备用),材料组 10 管(1 管备用),必要时设阳性对照组 3 管,置 37℃ 恒温培养箱中培养 24 h。

4.5.2 材料浸提液制备:将细胞培养基按 1 cm² 试样表面积 10 mL 的比例加入放有试样的试管中,37℃ 下浸提 24 h。

4.5.3 浸提液交换:24 h 后,每管舍弃原培养液,阴性对照组 9 管用新鲜培养液交换,阳性对照组用含 64 g/L 苯酚的细胞培养液交换,材料组用含 50%(V/V)浸提液的新鲜培养液进行交换,并对三支阴性对照管进行细胞计数,其余置 37℃ 继续培养。

4.5.4 细胞计数与吸光度测定

4.5.4.1 分别于 2、4、7 d 将对照组和材料组各 3 管进行细胞计数或吸光度测定,以判断细胞的增殖度。

4.5.4.2 细胞计数法:用含枸橼酸的结晶紫罗兰染色,血球计数板在显微镜下计数,上下限不得超过 10%,否则重新计数。

4.5.4.3 分光光度计测定吸光度法(仲裁法):弃去原细胞培养液,用 P.B.S 洗涤,10%(V/V)甲醛溶液固定 10 min,水洗 2~3 次,加 5 g/L 结晶紫罗兰 1.5 mL 染色 3 min,水洗 2~3 次,加 10 g/L 十二烷基硫酸钠 3.5 mL,用分光光度计在波长 588 nm 下测定吸光度。

4.6 结果计算

4.6.1 细胞计数法:细胞计数经 95% 可信度的数理统计,得上限、平均数、下限,通过细胞计数计算相对增殖度(RGR),见式(1)。

$$RGR(\%) = \frac{\text{材料组平均值}}{\text{阴性对照组平均值}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(1)$$

4.6.2 吸光度测定法:相对增殖度计算见式(2)。

$$RGR(\%) = \frac{\text{材料组吸光度} - \text{空白对照吸光度}}{\text{阴性对照组吸光度} - \text{空白对照吸光度}} \times 100 \quad \dots\dots\dots(2)$$

4.6.3 毒性评定:按表 5 规定把 RGR 值转换成六级反应以评定材料毒性程度。

表 5 反应分级标准

%

反应	相对增殖度
0 级	≥ 100
1 级	75~99
2 级	50~74
3 级	25~49
4 级	1~24
5 级	0

4.7 结果评价

4.7.1 试验结果为 0 或 1 级反应为合格。

4.7.2 试验结果为 2 级反应的,应结合细胞形态分析,综合评价。

4.7.3 试验结果为 3~5 级反应为不合格。

4.8 试验报告

4.8.1 试验材料、阴、阳性对照材料的化学名称,商品名称,产品批号,生产厂家以及材料试样尺寸规格,灭菌方式。

4.8.2 试验用细胞名称、来源、培养基种类。

4.8.3 试验方法和步骤。

4.8.4 计算细胞相对增殖度。

4.8.5 对试验材料进行评价。

5 过敏试验

5.1 方法提要

本试验是将一定量的材料或材料浸提液与豚鼠皮肤相接触,以评价材料对生物体的潜在致敏性。

5.2 试验动物

5.2.1 白色豚鼠体重 300~500 g,1~3 月龄,雌雄均可,试验样品组每组至少 10 只,对照组每组至少 5 只。

5.2.2 试验前 24 h,剃除豚鼠背部 4 cm×6 cm 区域毛发。

5.3 试验样品的制备和要求

5.3.1 供皮内注射的试样的制备

5.3.1.1 可溶性材料:不超过 100 g/L 的水溶液或油溶液。

5.3.1.2 不溶性材料:按第 3 章制备材料生理盐水或植物油浸提液。

5.3.1.3 含浸提介质或试验材料的完全弗氏佐剂的制备:将上述浸提介质、材料溶液或材料浸提液与完全弗氏佐剂等容积混合,用力搅拌数分钟至乳化完全为止。

5.3.2 供局部应用的试样的制备

5.3.2.1 液体材料:按皮内注射要求制备。

5.3.2.2 固体材料:按第 3 章制备材料生理盐水或植物油浸提液。

5.3.3 对照材料的制备

5.3.3.1 阳性对照:5%(V/V)甲醛溶液。

5.3.3.2 阴性对照:同批材料浸提介质或材料赋形剂。

5.3.4 经预试后,试验液体的最终浓度若导致局部溃疡、坏死或全身反应则将浓度降低到最大耐受剂

量。

5.4 试验步骤

5.4.1 诱导

5.4.1.1 皮内注射:70%(V/V)乙醇清洁豚鼠去毛区,在每只豚鼠背脊柱两侧6点对称皮内注射,各点相距1~2 cm,每点注射剂量为0.1 mL。注射剂型和位置见图1。

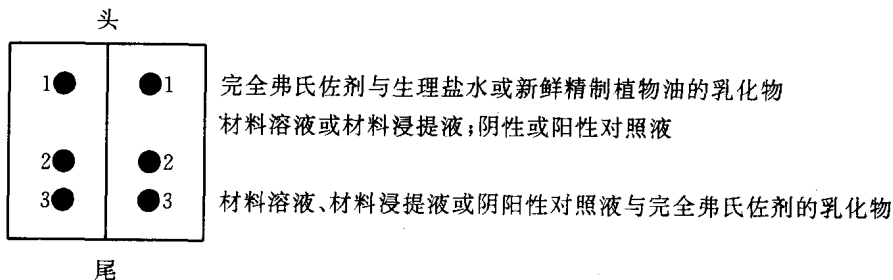


图1 注射剂型和位置

5.4.1.2 局部斑贴:皮内注射后1周,在豚鼠去毛区再度剃毛,70%(V/V)乙醇清洁,如未产生刺激症状,各注射部位以100 g/L十二烷基硫酸钠石蜡液(SLS)涂布,24 h后贴敷于材料溶液、浸提液或阴阳性对照液中浸泡至饱和的2 cm×4 cm滤纸片,固定并留置48 h±2 h。

5.4.2 激发

局部斑贴后至少14 d,将豚鼠腹部一侧毛发剃除,用70%(V/V)乙醇清洁,在腹侧去毛区贴敷同5.4.1.2处置的滤纸片,固定并留置24 h±2 h。

5.5 结果观察

除去贴敷物后24 h、48 h、72 h观察激发部位反应,按表6记录每一观察时间和每一激发部位红斑和水肿反应分级。

表6 皮肤反应分级标准

红斑反应	分级	水肿反应
无红斑	0	无水肿
极轻微的红斑(刚可察出)	1	极轻微水肿(刚可察出)
局限性红斑(淡红色)	2	轻微水肿(边缘和高度均局限)
中度红斑(鲜红色,区域清晰)	3	中度水肿(边缘升高近1 mm)
严重红斑(紫红色,形成轻微焦痂)	4	严重水肿(高度超过1 mm,边界超过接触区)

5.6 结果评价

5.6.1 阴性对照组动物皮肤反应分级小于1时,试验样品组动物反应分级为1或大于1时认为致敏;阴性对照组动物反应分级为1或大于1时,试验样品组动物反应超过对照组中最严重的反应则认为致敏。

5.6.2 60%的阳性对照动物的皮肤反应应为2或大于2,否则应重复试验。

5.6.3 封闭性包扎可能使动物产生皮肤反应,可与阴性对照组动物比较,如需再次激发,应在首次激发后7 d进行,贴敷于动物另一侧腹部。

5.7 试验报告

5.7.1 试验材料的化学名称、商品名称、产品批号和生产厂家;浸提介质和浸提条件。

5.7.2 使用动物的品系、性别、体重和健康状况。

5.7.3 描述每次观察期试验材料组和对照组动物的皮肤反应分级情况。

5.7.4 对试验材料进行评价。

6 皮内刺激试验

6.1 方法提要

本试验是一种非特异性的急性毒性试验。通过动物皮内注射材料浸提液,以评价材料是否对组织有
毒性作用。

6.2 试验动物

6.2.1 健康白色家兔,同一品系,雌雄均可,体重不低于 2 kg。

6.2.2 每种材料至少需用 3 只家兔,若试验结果可疑,应重复试验。

6.2.3 试验前 24 h 在兔脊柱两侧各剪剃 5 cm×25 cm 区域兔毛,应避免损伤皮肤。

6.3 按第 3 章规定制备材料生理盐水和植物油浸提液。

6.4 试验步骤

6.4.1 70%(V/V)乙醇消毒暴露的皮肤。

6.4.2 在兔脊柱两侧各选择 10 个点,每点间隔 2 cm,每点皮内注射剂量 0.2 mL。一侧前 5 点注射材料
生理盐水浸提液,后 5 点注射同批阴性对照生理盐水;另一侧前后 5 点分别注射材料植物油浸提液和阴
性对照植物油。注射部位图示见图 2。

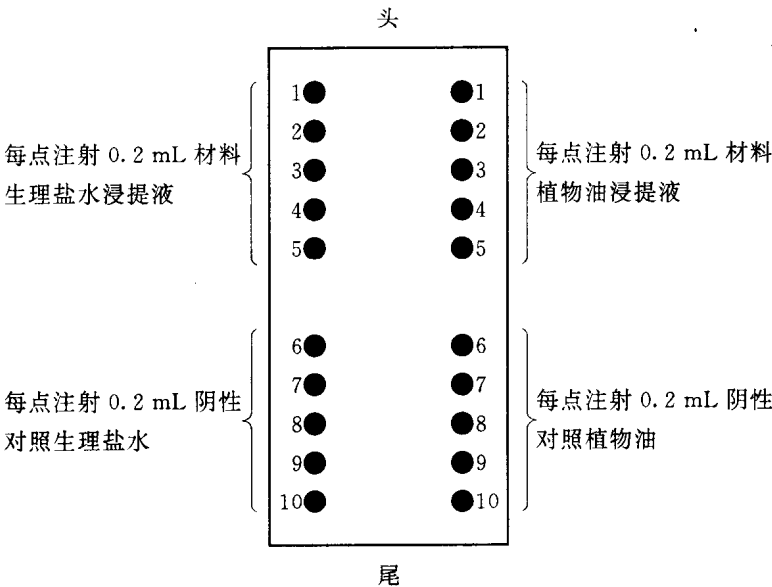


图 2 注射部位图示

6.5 结果观察

注射后 24 h、48 h、72 h 观察注射局部及周围皮肤组织反应,包括红斑、水肿和坏死等。注意与植物
油皮内注射产生的炎症反应相区别,按表 7 规定进行记分。

表 7 皮肤反应记分标准

红斑反应	记分	水肿反应
无红斑现象	0	无水肿现象
轻度红斑(勉强可见)	1	轻度水肿(勉强可见皮肤增厚)
明显红斑(淡红色)	2	明显水肿(隆起而轮廓清楚)
中度红斑(鲜红色)	3	中度水肿(隆起近 1 mm)
重度红斑(紫红色伴有轻微焦痂形成)	4	重度水肿(隆起大于 1 mm)

6.6 结果评价

- 6.6.1 按表 7 记分标准,分别计算每一动物材料浸提液和阴性对照液注射部位红斑、水肿平均记分,材料浸提液记分减去阴性对照液记分为每一动物原发性刺激记分。
- 6.6.2 每一动物原发性刺激记分相加再除以动物总数为原发性刺激指数(PII)。
- 6.6.3 按表 8 划分反应等级。

表 8 皮肤反应分级标准

反应分级	原发性刺激指数(PII)
无	0.0~0.4
轻微	0.5~1.9
中度	2.0~4.9
重度	5.0~8.0

6.7 试验报告

- 6.7.1 试验材料的化学名称、商品名称、产品批号、生产厂家、浸提介质和浸提条件。
- 6.7.2 使用动物的品系、性别、体重和健康状况。
- 6.7.3 描述每次观察期间试验部位和对照部位皮肤反应记分分级情况。
- 6.7.4 对试验材料进行评价。

7 原发性皮肤刺激试验

7.1 方法提要

本试验是将材料或材料浸提液与动物皮肤在规定时间内接触,通过动物皮肤的局部反应情况来评价材料对皮肤的原发性刺激作用。

7.2 试验动物

- 7.2.1 采用白色家兔,体重不低于 2 kg,雌雄均可,同一样品同一品系,每种材料至少需 3 只家兔。
- 7.2.2 试验前 24 h 动物背部去毛,脊柱两侧各选两个 3 cm×3 cm 面积的去毛区,间距 10 cm。

7.3 试验样品的制备和要求

- 7.3.1 液体材料 0.5 mL。
- 7.3.2 粉末状材料或半固体材料 0.5 g 制成一定浓度软膏或其他更接近实际使用的剂型。
- 7.3.3 薄膜材料制成 2.5 cm×2.5 cm 试片。
- 7.3.4 材料浸提液制备按第 3 章进行。
- 7.3.5 阴性对照:同批号浸提介质或材料赋形剂。

7.4 试验步骤

- 7.4.1 70%(V/V)乙醇消毒动物背部去毛区。
- 7.4.2 将适量材料置于图 3 所示试验部位,或用 2.5 cm×2.5 cm 滤纸块浸泡于试液中至饱和,贴敷于试验部位。

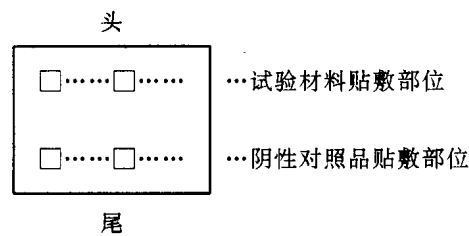


图 3 试验部位图示

7.4.3 材料贴敷于皮肤后,立即用 3 cm×3 cm 纱布块覆盖,最外层用胶布固定。

7.5 结果观察

7.5.1 贴敷固定 24 h 后,除去贴敷物,用温水清洁试验部位。

7.5.2 按表 9 所规定的记分标准,在除去贴敷物后 1 h、24 h、48 h、72 h 对试验部位的红斑和水肿反应记分。注意与由于皮肤温度的改变或皮肤的破损造成的感染所引起的红斑和水肿和材料所引起的刺激反应相区别。

表 9 皮肤反应记分标准

反应	程 度	记分
红斑 (ER)	无红斑	0
	极轻微的红斑(几乎看不到)	1
	边界清晰的红斑(淡红色)	2
	中等到严重的红斑(鲜红色,界限分明)	3
	极严重的红斑(呈紫红色)并有轻微焦痂出现	4
水肿 (ED)	无水肿	0
	极轻微的水肿(刚可察出)	1
	轻度水肿(边缘明显高出周围皮面)	2
	中等水肿(水肿区高出周围皮面约 1 mm)	3
	严重水肿(水肿高出表皮面在 1 mm 以上,面积超出斑贴区)	4

7.6 结果评价

7.6.1 按表 9 记分标准,分别计算每一动物材料试验部位和对照试验部位红斑、水肿平均记分,材料部位记分减去对照部位记分为每一动物原发性刺激记分。

7.6.2 每一动物原发性刺激记分相加再除以动物总数为原发性刺激指数(PII)。

7.6.3 除去贴敷物后 24 h、48 h、72 h 观察记分用于结果计算。按表 10 规定划分反应等级。

表 10 皮肤反应分级标准

反应分级	原发性刺激指数(PII)
无	0.0~0.4
轻微	0.5~1.9
中度	2.0~4.9
重度	5.0~8.0

7.7 试验报告

7.7.1 试验材料的化学名称、商品名称、产品批号和生产厂家;浸提介质和浸提条件。

- 7.7.2 使用动物的品系、性别、体重和健康状况。
- 7.7.3 描述每次观察期间试验部位和对照部位皮肤反应记分分级情况。
- 7.7.4 对试验材料进行评价。

8 口腔粘膜刺激试验

8.1 方法提要

本试验将材料或材料浸提液与动物口腔粘膜接触,观察局部组织反应程度,以评价材料对生物体口腔粘膜的刺激作用。

8.2 试验动物

- 8.2.1 健康成年仓鼠,雌鼠应无孕,口腔双侧颊囊应无病变,每种材料至少需 3 只动物。
- 8.2.2 每只动物套上 3~4 mm 宽的项圈,使动物能维持正常进食和呼吸,但又能防止动物口腔内棉球移出。动物每天称重,连续 7 d,检查动物体重变化情况以调整好项圈。

8.3 试验样品的制备和要求

- 8.3.1 材料浸提液制备按第 3 章规定进行。
- 8.3.2 液体材料、材料浸提液或材料浸提介质浸湿直径不大于 5 mm 的灭菌脱脂棉球。

8.4 试验步骤

- 8.4.1 除掉动物项圈,采用 10 g/L 戊巴比妥钠水溶液腹腔注射麻醉动物,注射剂量 3~6 mL/kg。
- 8.4.2 翻转动物颊囊用生理盐水冲洗后,检查有无异常。
- 8.4.3 将材料或材料浸提液浸湿的棉球放入动物一侧颊囊内,液体材料另一侧作为空白对照,材料浸提液另一侧放置浸提介质棉球作为试剂对照。重新给动物带上项圈。
- 8.4.4 每次接触时间根据材料预期实际使用时间而定,但不能少于 5 min。每次接触后取下项圈和棉球,用生理盐水冲洗颊囊。
- 8.4.5 急性接触:重复上述步骤,每小时 1 次,共 4 次。
- 8.4.6 重复接触:根据材料预期临床使用情况决定试验用量、试验周期和间隔期。

8.5 结果观察

- 8.5.1 每次接触后取出棉球肉眼观察比较动物颊囊试验侧和对照侧组织反应情况,检查有无糜烂、溃疡、充血及肿胀。
- 8.5.2 最后一次接触后 24 h,肉眼观察动物颊囊后麻醉处死动物,取与棉球接触的颊部组织,10% (V/V)甲醛溶液固定后常规切片,伊红-苏木素染色,每块组织至少做两张组织切片,显微镜下观察。
- 8.5.3 镜下观察试验侧和对照侧组织反应记分标准按表 11 规定。试验组或对照组平均记分为该组全部动物记分相加除以观察数;刺激指数为试验组平均记分减去对照组平均记分所得。

表 11 口腔粘膜组织反应记分标准

反应	程 度	记分
上皮	正常	0
	细胞变性或变平	1
	组织变形	2
	局部糜烂	3
	广泛糜烂	4