

中华人民共和国国家标准

GB/T 16886.10—2005/ISO 10993-10:2002
代替 GB/T 16886.10—2000

医疗器械生物学评价 第10部分： 刺激与迟发型超敏反应试验

Biological evaluation of medical devices—Part 10: Tests for irritation and
delayed-type hypersensitivity

(ISO 10993-10:2002, IDT)

2005-03-23 发布

2005-12-01 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



中 华 人 民 共 和 国
国 家 标 准
医 疗 器 械 生 物 学 评 价 第 10 部 分：
刺 激 与 迟 发 型 超 敏 反 应 试 验

GB/T 16886.10—2005/ISO 10993-10:2002

*

中国标准出版社出版发行
北京复兴门外三里河北街16号

邮政编码:100045

网址 www.bzcb.com

电话:68523946 68517548

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 3 字数 82 千字

2005年9月第一版 2005年9月第一次印刷

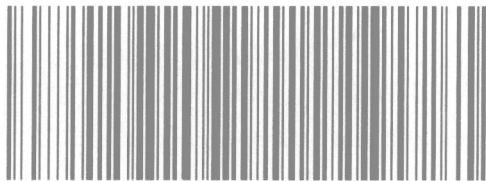
*

书号:155066·1-23396 定价 20.00 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)68533533



GB/T 16886.10—2005

前 言

GB/T 16886 的本部分等同采用国际标准 ISO 10993-10:2002《医疗器械生物学评价——第 10 部分:刺激与迟发型超敏反应试验》。

本部分经技术修订取代 GB/T 16886.10—2000,主要修订内容如下:

- 修改了“总则与评价程序”;
- 增加了“试验前的考虑”;
- 增加了“人体皮肤刺激试验”;
- 修改了“迟发型超敏反应试验”;
- 将“皮内反应试验”和“眼刺激试验”由原标准正文中改为放在附录 B 中,作为特定部位应用医疗器械的适用刺激试验;
- 将原标准中附录 A 和附录 B 的内容进行了综合修改,标题为“刺激和致敏试验用材料的制备”;
- 修改了“背景信息”;
- 取消了原标准附录 C。

GB/T 16886 的总题目是《医疗器械生物学评价》,由下列部分组成:

- 第 1 部分:评价与试验;
- 第 2 部分:动物保护要求;
- 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 8 部分:生物学试验参照材料的选择与定量指南;
- 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:聚合物医疗器械的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:降解产物和可溶出物的毒代动力学研究设计;
- 第 17 部分:可溶出物允许限量的确立;
- 第 18 部分:材料化学表征。

有关其他方面的生物学试验将有其他部分的标准。

本部分是诸多标准和准则的协调产物,其中包括 BS 5736、OECD 准则、美国药典和欧洲药典。本部分为试验选择和实施的基本指南文献,以对医疗器械和材料安全性有关的刺激和皮肤致敏反应做出评价。

附录 A 为规范性附录,附录 B 和附录 C 为资料性附录。

GB/T 16886.10—2005/ISO 10993-10:2002

本部分由国家食品药品监督管理局提出。

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、钱承玉、朱雪涛、黄经春、王昕、王科镭。

引 言

本部分用于评价从医疗器械中释放出的化学物质可能引起的接触性危害,包括导致皮肤与黏膜刺激、眼刺激和迟发型接触超敏反应。

医疗器械中所含有的某些材料已进行过试验,其潜在的皮肤、黏膜刺激或致敏作用已被确认。其他一些未做过试验的材料及其化学成分在与生物组织接触时可能会产生不良作用。制造商有责任在投放市场前评价器械的潜在不良作用。

传统上,人体试验之前要先进行小动物试验,以有助于预测人体反应。最近,还增加了可供选择的体外试验以及人体试验。尽管在这方面已做了很大努力并取得了一些进展,但结果显示目前所设计的体外试验尚不能令人满意,因此还不能够取消体内试验。本部分鼓励在适当的时机将体外预试方法作为动物试验前的筛选试验。为了减少所用动物数量,本部分提出循序渐进的方法,在每一阶段都对试验结果进行分析和评价。人体试验之前一般要求先进行动物试验。

进行这些研究时应遵循实验室质量管理规范并遵守与动物保护有关的规则。建议对数据进行统计学分析,而且在适宜的情况下予以引用。

GB/T 16886 的本部分所包括的试验是安全产品开发的重要工具,由受过培训的人员进行试验并解释试验结果。

目 次

前言	III
引言	V
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 总则与评价程序	3
5 试验前的考虑	3
6 刺激试验	4
7 迟发型超敏反应试验	11
8 解释试验结果的关键因素	16
附录 A (规范性附录) 刺激和致敏试验用材料的制备	17
A.1 总则	17
A.2 直接接触材料	17
A.3 试验材料浸提液	17
A.4 溶剂	17
A.5 无菌试验材料	17
附录 B (资料性附录) 其他刺激试验	18
B.1 总则	18
B.2 皮内反应试验	18
B.3 眼刺激试验	20
B.4 口腔刺激试验	23
B.5 阴茎刺激试验	26
B.6 直肠刺激试验	27
B.7 阴道刺激试验	29
附录 C (资料性附录) 背景信息	31
C.1 刺激试验背景信息	31
C.2 致敏试验在迟发型超敏反应方面的背景信息	31
参考文献	34

医疗器械生物学评价 第10部分： 刺激与迟发型超敏反应试验

1 范围

GB/T 16886 的本部分描述了医疗器械及其组成材料潜在刺激和迟发型超敏反应的评价步骤。

GB/T 16886 的本部分包括：

- a) 试验前的考虑；
- b) 试验步骤，以及
- c) 结果解释的关键因素。

附录 A 给出了与上述试验有关的特定材料制备说明。

附录 B 给出的补充试验明确要求适用于皮内注射的器械，以及在眼、口腔、直肠、阴茎、阴道部位使用的器械。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 GB/T 16886 本部分的引用而成为本部分的条款。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部分，然而，鼓励根据本部分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部分。

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

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

GB/T 16886.9 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（GB/T 16886.9—2001，idt ISO 10993-9:1999）

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—2004，idt ISO 10993-12:2002）

GB/T 16886.13 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（GB/T 16886.13—2001，idt ISO 10993-13:1998）

GB/T 16886.14 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（GB/T 16886.14—2003，idt ISO 10993-14:2001）

GB/T 16886.15 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（GB/T 16886.15—2003，idt ISO 10993-15:2000）

ISO 10993-18 医疗器械生物学评价——第18部分：材料化学表征

ISO 14155-1:2002 用于人体的医疗器械的临床试验——第1部分：通用要求

ISO 14155-2:2003 用于人体的医疗器械的临床试验——第2部分：临床试验方案

3 术语和定义

GB/T 16886.1 确立的以及下列术语和定义适用于 GB/T 16886 的本部分。

3.1

变应原 allergen

致敏原 sensitizer

能引起特异性超敏反应的物质/材料,当再次接触同一种物质(材料)时产生变态反应。

3.2

空白液 blank liquid

制备试验样品的同一种溶剂,不加试验材料以相同的方式处理,用于测定溶剂的背景反应。

3.3

激发 challenge/elicitation

诱导阶段后的过程,在这一阶段检验个体再次接触诱导材料的免疫学反应。

3.4

腐蚀 corrosion

组织结构的缓慢破坏。

注:如某种强刺激物的作用。

3.5

迟发型超敏反应 delayed-type hypersensitization

个体接触一种变应原产生特异性 T 细胞介导的免疫学记忆感应,在再次接触该变应原后引起迟发型超敏反应。

3.6

剂量 dose

对试验系统的一次给样量。

3.7

红斑 erythema

皮肤或黏膜发红。

3.8

焦痂 eschar

皮肤结痂或变色的腐痂。

3.9

诱导 induction

个体对特定材料免疫学反应的一种变异状态生成的过程。

3.10

刺激物 irritant

引起刺激的物质。

3.11

刺激 irritation

一次、多次或持续与一种物质(材料)接触所引起的局部非特异性炎症反应。

3.12

坏死 necrosis

单细胞或多细胞死亡、组织或器官的一部分死亡所导致的不可逆损伤。

3.13

阴性对照 negative control

当按规定步骤试验时,在试验系统中出现可再现的适当的阴性、无反应或背景反应,证明试验步骤适宜性的材料或物质。

3.14

水肿 oedema

液体向组织内异常渗透引起的肿胀。

3.15

阳性对照 positive control

当按规定步骤试验时,在试验系统中出现可再现的适当的阳性或反应性应答,证明试验步骤适宜性的材料或物质。

3.16

溶剂 solvent

用于湿化、稀释、悬浮、浸提或溶解试验物质的材料或物质。

示例:化学制剂、介质、培养基等。

3.17

试验材料 test material

供生物学或化学试验用的材料、器械、器械的一部分或组件。

3.18

试验样品 test sample

用于生物学或化学试验的浸提液或试验材料的一部分。

3.19

溃疡 ulceration

表浅组织缺损引起的开放性病变。

4 总则与评价程序

用于检验刺激与致敏的试验方法设定为测定潜在的皮肤刺激与致敏作用,这些试验一般不预示其他类型的不良作用。

本部分规定了评价程序,应包括下列一项或多项:

- a) 按照 GB/T 16886.9、GB/T 16886.13、GB/T 16886.14、GB/T 16886.15 和 ISO 10993-18 的基本原则,对试验材料进行鉴别,即对试验样品进行化学表征和分析;
- b) 文献检索,包括对试验材料化学和物理性能的评价、任何产品组分的潜在刺激和致敏信息,以及化学物和材料的材料结构方面的信息;
- c) 体内试验之前先考虑体外试验,若新的体外法具有适用性并被认可时,可取代体内试验。目前体外试验尚未得到认可(单纯性筛选除外)用于检测刺激物或致敏物;
- d) 体内动物试验;

注:对在 a) 或 b) 阶段没有被确定为强刺激物或致敏物的材料进行急性体内动物研究。对单次接触未证实急性皮肤刺激的材料可再反复接触后做出进一步评价。

实验室应至少每 6 个月进行一次皮肤致敏阳性对照物质试验^[7],以确认试验系统并证实阳性反应。

- e) 无创性人体试验(临床试验)。

如材料经证实对动物无刺激、无致敏或无毒性,可考虑进行人体皮肤刺激研究。

5 试验前的考虑

5.1 总则

需要强调的是试验前的考虑是非常重要的,其结果可能是无需进行刺激和(或)致敏试验。

GB/T 16886.1—2001 第 5 章中给出的和下列条款的要求是适用的。

5.2 材料类型

5.2.1 基本考虑

应考虑在医疗器械制造和装配期间可能用做加工助剂(如润滑剂或脱模剂)的其他化学成分。原材料的新增化学成分和制造加工助剂、装配粘合剂/溶剂残留物以及灭菌残留物或灭菌过程所致的反应性产物可能存在于成品中,这些成分是否产生健康危害(风险)取决于成品的渗漏或降解性能。

5.2.2 陶瓷、金属和合金

这些材料在化学成分数量方面一般比聚合物和生物衍生材料简单。

5.2.3 聚合物

这类材料在化学成分方面比 5.2.1 所列物一般要复杂一些,可能有若干添加剂,而且整个聚合反应可能会有变化。

5.2.4 生物衍生材料

这类材料在其成分方面特别复杂,也常含有加工残留物,如交联剂和抗生素。生物材料样品之间的成分可能是不一致的。

本部分中的方法不是设计为检验生物衍生材料,因此不适用于该类材料,例如本部分中的试验未考虑交叉致敏作用。

5.3 化学成分方面的信息

5.3.1 总则

应确立材料化学成分方面的完整的定性数据,也应获取与生物安全性相关的信息及定量数据。如没有定量数据,应用文件形式说明并确认。

5.3.2 已有的数据资料

可能的情况下应从原材料供应商处索取化学成分方面的定性与定量信息。

聚合物常要求专利信息的使用权,应签署转让和使用这种机密信息的条款。

还应从产品制造的系列制造厂(包括半成品和零件制造厂)索取其他一些生产过程中的添加剂(如脱模剂)的定性信息。

在没有任何化学成分数据的情况下建议研究文献,以确定原材料和添加剂的大概特性,这样有助于选择相关材料最适宜的分析方法。

注:陶瓷、金属和合金成分可依据国际标准或美国试验材料协会(ASTM)标准,和(或)依据用户的规定,但为了获取完整的成分定性与定量资料,可能还需要要求原材料供应商或制造厂以及零件制造厂提供这些信息,以保证能鉴别加工助剂。能够获取这些数据的另一来源是主管部门掌控的材料文件。

5.4 材料鉴别

在产品制造过程中,如没有详细的成分信息、或仅有定性信息、或可能是正待开发的新材料或未知物,在这种情况下可能需要进行材料分析。

应在研究的基础上采用适合于材料的分析方法,全部分析技术应经过论证、确认并报告。如不知材料(化学溶液)的 pH 值,可能的情况下在体内或体外试验前应进行测定。浸提液的化学分析(定性和定量)可给出有用的信息,在这里仍要强调的是浸提液的化学分析得出的结论可能是无需再进行刺激和致敏试验,因为浸提液中化学成分的潜在刺激与致敏作用信息也许是已知的。

6 刺激试验

6.1 体外刺激试验

有两个体外试验,即大鼠皮肤经皮电阻抗(TER)试验和 EPISKIN 试验,已被国际间认可用于评价化学物皮肤腐蚀性的替代试验,但是尚无认可的评价皮肤刺激性的体外方法。

各国际和国家组织一直在进行皮肤刺激体外试验的建立和确认工作并研究替代方法,也有些团体正在研究试验方法中动物和人反应的量化指标,以能够应用无创技术更好地限定终点(见 C.1)。

6.2 体内试验设计和选择中应考虑的因素

医疗器械的刺激试验可用成品和(或)其浸提液进行。

影响刺激试验结果的因素包括:

- a) 器械用于斑贴试验时的特性;
- b) 试验材料的剂量;
- c) 试验材料的应用方法;
- d) 封闭的程度;
- e) 接触部位;
- f) 接触时间和接触天数;
- g) 评价试验所采用的技术。

附录 C 提供了其他背景信息。

尽管增加了灵活性使研究者能提高试验的敏感性,可以适应各种使用和人群接触条件,但试验步骤的一致性确保不同材料试验结果和不同实验室试验结果具有可比性的基本保证。

评价多次和(或)长期接触的器械和材料的要求已包括在试验步骤中,试验设计应高于预期的实际临床接触条件[时间和(或)浓度],在解释试验结果时应注意到该因素。

试验材料的 pH 值如小于等于 2 或大于等于 11.5,应认为是一种刺激物,不必进一步试验。但同时试验结果也显示,试验材料的酸碱度并非是导致严重损伤的惟一因素,试验材料的浓度、接触时间及其他理化性能等也都是至关重要的因素。

注:预期广泛应用于正常和损伤皮肤的产品一般不允许对皮肤有实质性危害;然而对有些产品,由于其使用所带来的受益或其预期的生物学活性,则无论有无潜在的刺激作用,也是可以接受的。

6.3 动物皮肤刺激试验

6.3.1 目的

采用相关动物模型对材料在试验条件下产生皮肤刺激反应的潜在性做出评价。

家兔为首选试验动物。

6.3.2 试验材料

固体或液体试验材料应按附录 A 规定进行制备。

为了证实试验的敏感性,每只动物最好设有阴性对照和阳性对照。每只动物体上分别有两个试验材料区域和两个对照材料区域,试验材料和对照材料的试验剂量和所用的浸提介质应相同。

6.3.3 动物与管理

应使用健康、初成年的白化兔,雌雄不限,同一品系,体重不低于 2 kg。

应使动物适应环境,并按 GB/T 16886.2 的规定饲养。

如预期有刺激反应,初试应考虑使用 1 只动物。如没有出现明显的阳性反应[红斑或水肿记分大于 2(见表 1)]时,应至少再使用 2 只动物进行试验。如预期无反应,初试可使用 3 只动物。在使用了至少 3 只动物后,如仍为疑似反应或不明确,应考虑进行复试。

6.3.4 试验步骤

6.3.4.1 动物准备

动物的皮肤状况是试验的关键因素,只能使用皮肤健康无损伤的动物。一般在试验前 4 h ~ 24 h 将动物背部脊柱两侧被毛除去(约 10 cm × 15 cm 区域),作为试验和观察部位。为了便于观察和(或)再次试验,可能需反复除毛。如果脱毛剂经确认使用简便,可由专业人员使用脱毛剂除毛。如需反复接触,按照下列 6.3.4.2、6.3.4.3 或 6.3.4.4 步骤进行,时间最长为 21d。

6.3.4.2 粉剂或液体样品的应用

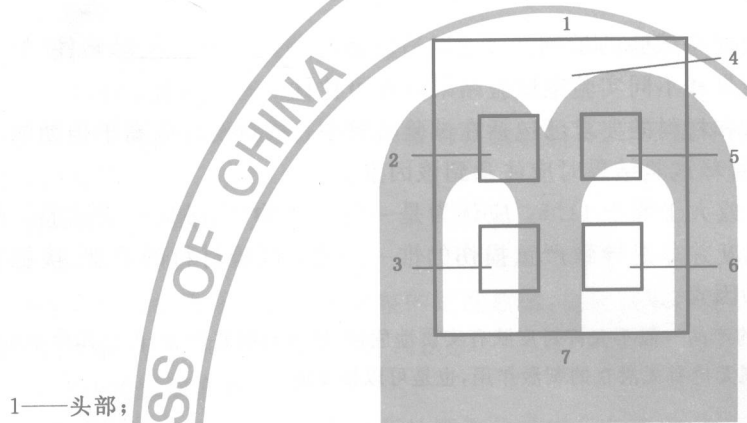
将 0.5 g 或 0.5 mL 的试验材料直接置于图 1 所示皮肤部位。固体和疏水性材料无需湿化处理,粉剂使用前宜用水或其他适宜的溶剂稍加湿化(见附录 A)。

用 2.5 cm×2.5 cm 透气性好的敷料(如吸收性纱布块)覆盖接触部位,然后用绷带(半封闭性或封闭性)固定敷贴片至少 4 h。接触期结束后取下敷贴片,用持久性墨水对接触部位进行标记,并用适当的方法除去残留试验材料,如用温水或其他适宜的无刺激性溶剂清洗并拭干。

6.3.4.3 浸提液和浸提介质的应用

将相应的浸提液滴到 2.5 cm×2.5 cm 大小的吸收性纱布块上,浸提液的用量以能浸透纱布块为宜,一般每块纱布滴 0.5 mL,按图 1 所示部位敷贴于动物背部两侧。按图 1 所示将滴有浸提介质的纱布块敷贴在对照接触部位。

用绷带(半封闭性或封闭性)固定敷贴片至少 4 h。接触期结束后取下敷贴片,用持久性墨水对接触部位进行标记,并用适当的方法除去残留试验材料,如用温水或其他适宜的无刺激性溶剂清洗并拭干。



- 1——头部;
- 2——试验部位;
- 3——对照部位;
- 4——去毛的背部区域;
- 5——对照部位;
- 6——试验部位;
- 7——尾部。

图 1 皮肤应用部位

6.3.4.4 固体样品中的应用

按图 1 所示,将试验材料样品直接接触兔脊柱两侧的皮肤。对样品同法应用。检测固体物时(必要时可研成粉末),试验材料可用水或选择一种溶剂充分湿化以保证与皮肤良好的接触性(见附录 A)。如使用溶剂,应考虑溶剂本身对皮肤的刺激作用,这种影响应与试验材料所致的皮肤反应相区别。

用 2.5 cm×2.5 cm 的透气性好的敷料(如纱布块)覆盖材料接触部位,然后用绷带(半封闭性或封闭性)固定敷贴片至少 4 h。接触期结束后取下敷贴片,用持久性墨水对接触部位进行标记,并用适当的方法除去残留试验材料,如用温水或其他适宜的无刺激性溶剂清洗并拭干。

6.3.5 动物观察

6.3.5.1 总则

推荐在自然光线或全光谱灯光下观察皮肤反应。按表 1 给出的记分系统描述每一接触部位在每一规定时间内皮肤红斑和水肿反应情况并评分,记录结果以出具试验报告。

注:在某些情况下,采用组织学或无创性方法可能有助于对皮肤反应的评价。

6.3.5.2 单次接触试验

单次接触试验时,在除去敷贴片后 1 h、24 h、48 h 和 72 h 记录各接触部位情况。如存在持久性损伤有必要延长观察时间,以评价这种损伤的可逆性或不可逆性,但延长期不必超过 14 d。

6.3.5.3 多次接触试验

多次接触试验应仅在急性单次接触试验完成后进行(至少在观察 72 h 后)。

多次接触试验时,每次在除去敷贴片后 1 h 以及再次接触前记录接触部位情况。接触次数可不限。

末次接触后,除去敷贴片后 1 h、24 h、48 h 和 72 h 记录各接触部位情况。如有持久性损伤可能需要延长观察时间,以评价这种损伤的可逆性或不可逆性,但不必超过 14 d。

6.3.6 结果评价

单次接触试验按下列规定确定原发性刺激指数(PII)。

仅使用 24 h、48 h 和 72 h 的观察数据进行计算。试验之前或 72 h 后的恢复观察数据不用于计算。

将每只动物在每一规定时间试验材料引起的红斑与水肿的原发性刺激记分相加后再除以观察总数之和(每一试验部位的 1 个观察数据包括红斑和水肿两个记分)。当采用空白溶液或阴性对照时,计算出对照原发性刺激记分,将试验材料原发性刺激记分减去该记分,即得出原发性刺激记分。该值即为原发性刺激指数。

多次接触试验按下列规定计算累积刺激指数。

将每只动物在每一规定时间的红斑和水肿刺激记分相加后再除以观察总数,即为每只动物刺激记分。

全部动物刺激记分相加后再除以动物总数即得出累积刺激指数。

将累积刺激指数对照表 2 限定的刺激反应,报告相应的反应类型。

注:累积刺激指数类型是根据化学药品在家兔试验中得出的原发性刺激指数(PII),以及在人体试验中得出的原发性刺激反应两者结合而确定的。

记录每只动物的任何反应,包括表 1 范围内的最大原发性刺激记分、反应发生时间和最长反应时间。

表 2 用数字(记分)和文字(反应类型)说明了原发性或累积性刺激指数。在用不同剂量的浸提液试验时,以其给出的最高 PII 来确定反应类型。

表 1 皮肤反应记分系统

反 应	原发性刺激记分
红斑和焦痂形成	
无红斑	0
极轻微红斑(勉强可见)	1
清晰红斑	2
中度红斑	3
重度红斑(紫红色)至焦痂形成	4
水肿形成	
无水肿	0
极轻微水肿(勉强可见)	1
清晰水肿(肿起,不超出区域边缘)	2
中度水肿(肿起约 1 mm)	3
重度水肿(肿起超过 1 mm,并超出接触区)	4
刺激最高记分	8
注:记录并报告皮肤部位的其他异常情况。	

表 2 兔刺激反应类型

平均记分	反应类型
0 ~ 0.4	极轻微
0.5 ~ 1.9	轻度
2 ~ 4.9	中度
5 ~ 8	重度

6.3.7 试验报告

试验报告应包括：

- a) 试验材料或器械的描述；
- b) 试验材料或器械的预期用途/应用；
- c) 制备试验样品或试验材料所用方法的详细描述；
- d) 试验动物的描述；
- e) 试验部位接触方法和绷带材料类型(半封闭或封闭式)；
- f) 试验部位标记方式和读数；
- g) 观察记录；
- h) 接触量和接触周期,多次接触时每次均记录；
- i) 结果评价。

6.4 人体皮肤刺激试验

6.4.1 简介

迄今为止主要依赖用试验动物(见附录 C)来推测人体皮肤刺激,以鉴别造成的危害。然而,由动物外推至人存在许多问题。对人体接触程度高的化学物(例如化妆品和洗涤剂)进行风险性评价时通常采用人体皮肤斑贴试验。

人体研究能达到以下几种目的：

- a) 通过在人体而非实验动物检验化学物可直接鉴别出对人体的危害；
- b) 为人体接触程度高的化学物提供风险性评价；
- c) 便于用先前已获取的实验动物研究数据推测人体应用。

GB/T 16886 的本部分允许直接从人体获取皮肤刺激数据,以鉴别产生的危害。本部分的目的是,确定在急性接触某种材料后是否存在明显的皮肤刺激危害。

临床试验应按 ISO 14155-1 和 ISO 14155-2 规定进行。

注:C.1 给出了更多的刺激试验信息。

6.4.2 初步考虑

应获取关于材料毒性方面和材料化学组分(与毒性相关的)的充分信息,包括经由皮肤吸收数据,以能预示人体研究不存在明显健康风险。

在下列情况下不应将材料试验于人体：

- a) 在体外或体内预测时,材料已显示出有刺激性；
- b) 在体外或体内预测时,材料已显示出有腐蚀性；
- c) 根据结构-活性关系和(或)物理化学特性(如强酸或强碱余量),可预测出材料对人体皮肤的潜在腐蚀性；
- d) 材料具有引起皮肤或呼吸道致敏反应的风险；
- e) 在试验条件下材料可产生急性毒性危害;和(或)
- f) 材料可产生遗传毒性、生殖毒性或致癌性危害。

志愿者选择指南见 6.4.5.1 和第 C.1 章。

6.4.3 原理

将供试材料单次剂量贴敷于志愿者皮肤上封闭。试验材料短期接触皮肤以使刺激反应保持在最低限度,但在某些情况下,较长的接触期可能也适用。

本试验通过测定志愿者中出现皮肤刺激反应的比例来进行评价,这些反应与阳性对照材料引起的反应具有相关性。

6.4.4 试验方法描述

6.4.4.1 志愿者选择

本试验设计用于健康的志愿者。选择的志愿者应至少 18 岁,无孕并不在哺乳期。此外不应选择已知对试验材料过敏或有皮炎症状的人员作为志愿者。选择志愿者的过程应由皮肤病专家或其他有资格的人员进行监督。

6.4.4.2 剂量制备

液体试验材料通常使用时不稀释。检验固体材料时,可用少量水(通常 0.2 mL)或在必要时用其他适宜的介质湿润试验材料,以保证试验材料与皮肤良好的接触性。应考虑固体材料的结构并应证实所用试验材料制备方法的合理性。使用湿润过的样品时应注意保证每一受试者接受试验材料的剂量相同。试验中每一受试者湿润用水量应相同并记录用水量。

使用介质时,应考虑到介质对试验材料引起的皮肤刺激反应的影响。当使用除水之外的介质作为固体材料的湿润剂时,应考虑给每一受试者设置空白液体(介质对照)贴敷。

6.4.4.3 步骤

6.4.4.3.1 志愿者人数

本试验应至少由 30 名志愿者组成,其中,男性或女性所占比例不能少于三分之一。

6.4.4.3.2 试验材料应用

将试验材料贴敷于人体皮肤的适宜位置,如上臂外侧,然后用带有纱布块的封闭性包扎带固定。志愿者的应用部位应相同并应记录。敷贴片直径一般应至少为 1.8 cm,最好是 2.5 cm。采用适宜的无刺激性敷料及胶带固定敷贴片,使其在试验期间能与皮肤接触。

敷贴片应能向皮肤单位面积内施加足够的试验材料剂量,一般认为约 $50 \text{ mg/cm}^2 \sim 100 \text{ mg/cm}^2$ 为宜。在应用液体试验材料时,通常向纱布片上滴加 0.2 mL~0.4 mL,直至其湿润。试验固体材料时则将 0.2 g 试验材料湿润后加到纱布块上,或者将纱布块湿润使试验材料覆盖整个试验部位。

6.4.4.3.3 接触时间

为了避免不可接受的强烈反应,应采用谨慎的方法进行试验。连续贴敷过程会产生阳性反应,但并非严重的刺激反应。可逐渐增加敷贴片接触时间,从 15 min 和 30 min 开始,直至 1 h、2 h、3 h 和 4 h。如有足够的迹象表明接触 1 h 不会引起强烈反应,则可省略 15 min 和(或)30 min 的接触时间段。在短期接触未产生皮肤刺激反应(至少评价至试验后 48 h)的情况下,可在另外一个新的皮肤部位进行长期贴敷,包括 24 h 在内的封闭性贴敷,以保证能充分评价迟发型刺激反应。

长期接触试验时要将试验材料贴敷在未试验过的皮肤部位。

接触期结束后应除去残余的试验材料,可采用水或其他不改变表皮当前反应或整体状况的适宜溶剂。

6.4.4.3.4 短期接触

除了按 6.4.4.3.3 的描述逐渐增加应用时间外,如怀疑材料可能会导致严重的刺激反应,应减少接触时间,可在小规模志愿者组试验。根据得出的数据确定试验进程,随后再敷贴时应在 48 h、72 h 读数后进行。

6.4.4.3.5 临床观察和皮肤反应等级

检查敷贴部位是否有刺激反应迹象。除去敷贴片后立即对反应分级,并分别在 1 h~2 h、24 h、48 h 和 72 h 时对反应分级。必要时要测定反应的可逆性,观察期可超过 72 h。此外,应准确描述试验前后

皮肤的状况(如色素沉着和水合程度)。按照表3对皮肤刺激反应分级并记录。

可使用无创性生物工程方法(见附录C)。

表3 人体皮肤刺激试验分级

反应描述	等级
无反应	0
微弱阳性反应(轻微红斑和(或)接触区域大面积干燥)	1
中度阳性反应(明显的红斑或干燥,可能超出接触区)	2
重度阳性反应(重度及扩散性红斑伴水肿和(或)焦痂形成)	3

有些志愿者在接触时间少于4h时即产生1级或1级以上的反应,则可推知如接触试验材料4h时将会出现更强的反应。志愿者一旦出现了1级或更严重的反应,就没有必要再进行试验,但可能还需继续进行观察,以对志愿者进行适当的护理。除了观察刺激反应外,还应对其他反应进行记录并充分描述。例如,在除去敷贴片后,应培训志愿者就敷贴接触发表意见(如感觉方面),并还应培训评价者注意即时反应(如荨麻疹)。这些观察并不一定表明有刺激反应,但如果注意到了这些现象就应写入到试验报告中。如果这些现象很明显,在试验中就应对此加以考虑,以保证志愿者得到适当的护理。

获得的判定数据是志愿者接触试验材料4h时发生或预期发生皮肤刺激反应的数量。个体发生反应(如果有)所需的时间不作为评价结果的一部分,仅用于使志愿者能得到适当的护理。

6.4.4.3.6 阳性对照物质选择说明

由于人体对刺激物的反应各异,所以试验应包括阳性对照,以测定试验组检测试验物质刺激反应的适用性。最好使用20%的十二烷基硫酸钠(SDS)作为阳性对照,其刺激作用已有定论(见第C.1章)。其他对照物经确认后也可使用。

可用常规阳性对照作为试验参照。皮肤刺激反应并非一种绝对现象,所有的材料都能引起皮肤刺激,只是取决于剂量多少和接触性质及程度大小的问题。因此,人体皮肤刺激试验一般要进行比较,并与已知的化学刺激性联系起来进行评价。

6.4.5 数据和报告

6.4.5.1 数据

应采用表格形式对包括阳性和阴性对照材料结果在内的数据进行总结,显示出除去敷贴片后24h、48h和72h时每个志愿者的刺激反应得分和观察到的任何其他反应。

6.4.5.2 数据评价(解释)

本试验的目的是测定材料在急性接触时是否具有明显的皮肤刺激潜在危害。因此,如果材料在受试者中引起皮肤刺激反应的频率等于或高于阳性对照,则认为该材料为明显的皮肤刺激物。另一方面,如材料在受试者中引起皮肤刺激的频率确实明显小于阳性对照,则不认为是明显的皮肤刺激物。值得注意的是,不应将志愿者护理过程中产生的临时数据与终点数据相混淆,终点数据即指受试者显示刺激反应的比率。同时还要结合试验材料的一般性刺激潜力,注意不要混淆个别志愿者在皮肤刺激敏感性方面的差异。

6.4.5.3 试验报告

试验报告应包括下列信息:

- 伦理方面的考虑和志愿者自愿的确认;
- 试验材料:
 - 物理性质和相关的理化特性;
 - 鉴别数据;
- 介质:

——鉴别并论证湿润固定试验材料时选用的介质；

d) 志愿者：

——应用试验材料的志愿者的人数；

——志愿者的年龄、性别分布情况；

e) 结果：

——在 0 h、1 h、2 h、24 h、48 h 和 72 h 时的反应率和在其他时间的反应得分；

——每一观察时间段内每一志愿者的刺激反应数据列表(在除去敷贴片后 24 h、48 h 和 72 h 时刺激反应率的总结)；

——对观察到的所有刺激反应的描述；

——对观察到的其他非刺激反应的描述；

——结果的统计学处理(与阳性对照的对比,如用 Fisher's 试验)；

——如果在人体试验之前进行过体外或体内动物试验,应对其进行描述并加以参考,包括详细步骤、试验和对照材料检验结果；

f) 结果讨论。

7 迟发型超敏反应试验

7.1 试验选择

用于测试迟发型超敏反应最常用的两种方法是豚鼠最大剂量试验(GPMT)和封闭式贴敷试验(Buehler 试验)。

最大剂量试验为最敏感的方法,首选用于单一化学物。有报告说明本法也适用于浸提液的评价,但其主要的价值还是在于已被充分证实适用于检验单一化学物。最近,国际间已接受鼠科动物局部淋巴结测定(LLNA)作为豚鼠试验^[83]的惟一替代试验用于检验单一化学物。

注:附录 C 给出了说明和其他方法目录。

7.2 试验样品浓度选择

7.2.1 总则

目前的试验准则推荐,在检验单一化学物的致敏潜力时仅用一种浓度。但是,试验结果在很大程度上是由试验剂量所决定的,因此试验如用于浸提液的评价,推荐对供试浸提液进行定性和定量分析。

7.2.2 诱导

致敏率在很大程度上依赖于诱导剂量,诱导剂量应为中度刺激性。如达不到刺激限度,可选择所能达到的最高浓度,但是不应影响动物的健康。按具体试验描述的步骤在预试验的基础上选择诱导剂量,用通用肠外给药溶剂制备的未稀释的浸提液不需要进行预试验。

7.2.3 激发

激发浓度也要在预试验的基础上选择,试验使用之前未接触过试验材料的动物。应采用刺激极限下的浓度,同时建议激发步骤采用一种以上浓度,以便于结果评价(见第 C.2 章)。

7.3 影响试验结果的其他重要因素

试验样品的生化和物理特性可能会影响试验的选择。最大剂量试验需做皮内注射,如试验样品不能皮内注射,则应采用其他替代方法。

不同的介质对试验材料的生物利用度会产生影响,任何一种介质不可能适合于所有的材料,因此宜选择溶解度和渗透性均最佳的溶剂。试验材料的浓度在不影响结果解释的前提下应尽可能选择最高浓度。大部分研究者推荐试验样品为溶液,因为分散剂易于形成沉淀,使得精确给药比较困难。用于皮内注射的介质有盐水、丙二醇和植物油。

不同实验室得出结果之间的差异可能出于多种原因。下列因素在试验步骤中是很重要的:试验环境条件、动物试验部位、除毛方法(剪、剃)或化学脱毛、敷贴片设计型式、试验材料剂量、封闭性、接触时