



中华人民共和国国家标准

GB/T 14233.2—20XX
代替GB/T 14233.2—2005

医用输液、输血、注射器具检验方法 第2部分：生物学试验方法

Test methods for infusion, transfusion, injection equipment for medical use—

Part 2: Biological test methods

征求意见稿

(完成时间：2024 年 7 月)

20XX-XX-XX 发布

20XX-XX-XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会

发布

目 次

前 言 II

引 言 III

1 范围 4

2 规范性引用文件 4

3 术语和定义 4

4 浸提液制备 4

5 热原试验 6

6 急性全身毒性试验 7

7 与血液相互作用试验 8

8 细胞毒性试验 12

9 致敏试验（最大剂量法） 14

10 皮内反应试验 15

11 植入后局部反应试验 16

12 重复接触全身毒性试验 16

13 遗传毒性试验 17

参考文献..... 17

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GB/T 14233《医用输液、输血、注射器具检验方法》的第2部分。GB/T 14233已经发布了以下部分：

- 第1部分：化学分析方法；
- 第2部分：生物学试验方法；
- 第3部分：微生物学试验方法。

本文件代替GB/T 14233.2—2005《医用输液、输血、注射器具检验方法 第2部分：生物学试验方法》，与GB/T 14233.2—2005相比，除结构调整和编辑性改动以外，主要技术变化如下：

- 删除了无菌试验（见2005版的第3章）；
- 删除了细菌内毒素试验（见2005版的第4章）；
- 增加了浸提液制备（见第4章）；
- 更改了热原试验、急性全身毒性试验、溶血试验、细胞毒性试验、致敏试验、皮内反应试验的浸提液制备方法（见5.5.1、6.5.1、7.2.4、8.5.4.1、9.5.3、10.5.2，2005版的5.5.1、6.5.1、7.4、8.5.4.2、9.5.3、10.5.2）；
- 更改了急性全身毒性试验注射后动物反应观察（见6.5.3，2005版的6.5.3）；
- 更改了急性全身毒性反应的结果判定原则（见6.5.4，2005版的6.5.4）；
- 将“与血液（器械）相互作用试验”更改为“与血液相互作用试验”，整合了相关试验，并在“试验步骤和判定原则”引用相关行业标准（见第7章，2005版的附录B）；
- 增加了溶血试验间接接触试验（见7.2.1，2005版的7.1）；
- 更改了溶血试验新鲜稀释抗凝兔血制备方法（见7.2.5，2005版的7.5）；
- 更改了溶血试验试验方法和结果计算（见7.2.6，2005版的7.6和7.7）；
- 更改了细胞毒性试验用的试剂和浸提介质（见8.2和8.5.2，2005版的8.2和8.5.2），删除了细胞培养常用溶液和培养液制备方法（见2005版的8.4.2和附录C），增加了四唑盐（MTT）染色液的制备方法（见8.4.2）；
- 更改了“植入试验”的名称以及试验方法（见第11章，见2005版的第11章）；
- 更改了“亚急性（亚慢性）全身毒性试验”的名称以及试验方法（见第12章，2005版的附录A）；
- 增加了遗传毒性试验（见第13章）。

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。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医用输液器具标准化技术委员会（SAC/TC 106）归口。

本文件起草单位：山东省医疗器械和药品包装检验研究院、。

本文件主要起草人：。

本文件及其所代替文件的历次版本发布情况为：

- 1993年首次发布为GB/T 14233.2-1993，2005年第一次修订；
- 本次为第二次修订。

引 言

本文件给出的生物学试验方法是根据GB/T 16886.1的基本原则，在GB/T 16886（所有部分）和中国药典四部中相应生物学试验方法学原理和试验步骤的基础上，根据医用输液、输血、注射器具的特性和生物学评价需求制定而成，因此本文件适用于医用输液、输血、注射器具的生物学评价。

对于没有安全应用史的新材料、新工艺制备的产品，可能还需要在风险评估的基础上考虑更多的评价终点，如致癌性、免疫毒性、生殖/发育毒性或其他器官特异性毒性。

GB/T 14233《医用输液、输血、注射器具检验方法》拟由三个部分构成。

- 第1部分：化学分析方法。目的在于给出医用输液、输血、注射器具的化学分析方法。
- 第2部分：生物学试验方法。目的在于给出医用输液、输血、注射器具的生物学试验方法。
- 第3部分：微生物学试验方法。目的在于给出医用输液、输血、注射器具的微生物学试验方法。

医用输液、输血、注射器具检验方法 第2部分：生物学试验方法

1 范围

本文件规定了医用输液、输血、注射器具生物学试验方法。

本文件适用于医用输液、输血、注射器具。

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 16886.3 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（GB/T 16886.3—2019, ISO 10993-3:2014, IDT）

GB/T 16886.4 医疗器械生物学评价 第4部分：与血液相互作用试验选择（GB/T 16886.4—2022, ISO 10993-4:2017, IDT）

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 16886.6—2022, ISO 10993-6:2016, IDT）

GB/T 16886.10 医疗器械生物学评价 第10部分：刺激与皮肤致敏试验（GB/T 16886.10—2017, ISO 10993-10:2010, IDT）

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 16886.11—2021, ISO 10993-11:2017, IDT）

GB/T 16886.12 医疗器械生物学评价 第12部分：样品制备与参照材料（GB/T 16886.12—2023, ISO 10993-12:2021, IDT）

GB/T 16886.23 医疗器械生物学评价 第23部分：刺激试验（GB/T 16886.23—2023, ISO 10993-10:2021, IDT）

YY/T 0870（所有部分） 医疗器械遗传毒性试验

YY/T 0878.3 医疗器械补体激活试验 第3部分：补体激活产物（C3a和SC5b-9）的测定

YY/T 1649.1 医疗器械与血小板相互作用试验 第1部分：体外血小板计数法

YY/T 1649.2 医疗器械与血小板相互作用试验 第2部分：体外血小板激活产物（ β -TG、PF4和TxB2）的测定

YY/T 1651.1 医疗器械溶血试验 第1部分：材料介导的溶血试验

YY/T 1770.1 医疗器械血栓形成试验 第1部分：犬体内血栓形成试验

YY/T 1911 医疗器械凝血试验方法

中华人民共和国药典 四部

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 浸提液制备

4.1 总体要求

浸提液制备应按照 GB/T 16886.12 中的规定，尽量模拟样品临床使用环境（如样品的接触面积、时间、温度等）。模拟浸提时间应不少于样品正常使用时间，否则应对其可行性和合理性进行论证。当样品的使用时间较长时（如超过 24 h），应考虑采用加严试验条件制备浸提液，但宜对其可行性和合理性进行论证。

试验应在最终产品、取自最终产品中有代表性的样品或与最终产品以相同的工艺过程制得的材料，或者以上样品或材料制备的适合的浸提液中进行。

4.2 主要设备

超净工作台或生物安全柜、电子天平、恒温振荡培养箱、恒温水浴箱、压力蒸汽灭菌器、电热干燥箱等。

4.3 浸提容器

除另有规定，浸提应在洁净、化学惰性、密闭的容器中进行。

为确保浸提容器不干扰试验材料浸提液，浸提容器应为：

- a) 硼硅酸盐玻璃试管，其密封盖内衬为惰性材料（如聚四氟乙烯）；或
- b) 特定材料和/或浸提程序所需的其他惰性浸提容器。

4.4 浸提介质

浸提时应使用极性和非极性两种浸提介质。在某些器械特定的情况下，仅在一种浸提介质（极性或非极性）中进行浸提可能是适宜的。如果只在一种介质中浸提，则应提供理由。常见的浸提介质有：

- a) 氯化钠注射液；
- b) 精制植物油；

注 1：本文件各试验中所用精制植物油推荐采用符合药典规定的棉籽油或芝麻油，或其他经验证证实无生物学毒性反应的植物油。

- c) 无血清或含血清的细胞培养基。

注 2：必要时，选择其他适宜的浸提介质。

4.5 样品的选择与制备

推荐在表 1 中选择浸提液制备方法。如适用，可使用其他适宜的浸提液制备方法。

表 1 浸提液制备方法

序号	浸提液制备方法	适用样品说明
1	取样品与人体接触部分，适宜时，切成 1 cm 长的小段，按样品内外总表面积（cm ² ）与浸提介质（mL）的比为 3：1（壁厚小于 0.5 mm 时，比例为 6：1）的比例加浸提介质，加盖后在（37±1）℃下振荡浸提（72±2）h（使用时间不超过 24 h 的产品），或置于压力蒸汽灭菌器中，在（121±2）℃浸提（1±0.1）h（使用时间超过 24 h 的产品）。	体内导管类或导丝类
2	样品中加浸提介质至公称容量，或按样品内表面积与浸提介质（mL）的比为不低于 6 cm ² /mL 的比例加浸提介质，在（37±1）℃下振荡浸提（72±2）h（使用时间不超过 24 h），或（121±2）℃浸提（1±0.1）h（使用时间超过 24 h）。	容器类或体外输注管路类
3	预充式样品中的预充液如直接用于试验，则在（37±1）℃下振荡（72±2）h（使用时间不超过 24 h），或（121±2）℃浸提（1±0.1）h（使用时间超过 24 h）。如预充液不能直接用于试验，可先弃去预充液，样品中加浸提介质至公称容量，或按样品内表面积（cm ² ）与浸提介质（mL）的比为不低于 6:1 的比例加浸提介质。	预充式类
4	取样品，按样品适当重量如 0.2 g 或 0.1g ^a 加 1mL 的比例加浸提介质，在（37±1）℃下振荡浸提（72±2）h（使用时间不超过 24 h），或置于压力蒸汽灭菌器中，在（121±2）℃浸提（1±0.1）h（使用时间超过 24 h）。	不规则类
5	取样品，按样品重量（g）或表面积（cm ² ）加适当比例的浸提介质（额外增加浸提介质	吸水性材料类

吸收量)，(37±1)℃下振荡浸提 (72±2) h。	
注 1：温度的选择考虑临床使用可经受的最高温度。若为聚合物，温度选择在玻璃化温度以下。 注 2：振荡浸提速率推荐为 60 rpm 或其他经验证的速率。 注 3：细胞毒性试验一般选择细胞培养基为浸提介质，短期接触（<24 h）样品可选择浸提条件为（37±1）℃下浸提（24±2）h，长期（>24 h，<30 d）或持久（>30d）接触样品选择浸提条件为（37±1）℃下浸提（72±2）h。 注 4：涂层材料取样包括涂层材料和基质材料，尽量完整浸提。 注 5：根据需要设置对照组，浸提液制备方法与样品组保持一致。	
*0.2 g/mL 比例适用于不规则形状的固体样品，0.1 g/mL 比例适用于不规则形状低密度多孔固体样品。	

5 热原试验

5.1 目的

本试验将样品浸提液注入家兔静脉，在规定的时间内观察家兔体温升高的情况，以判定样品是否具有潜在的材料致热作用。

5.2 试剂

氯化钠注射液。

5.3 主要设备和器具

电热干燥箱、电热恒温水浴箱、压力蒸汽灭菌器、热原测试仪、恒温振荡培养箱、电子秤、注射器等。

5.4 试验前准备

5.4.1 器具除热原

与样品/浸提液接触的所有玻璃器皿置电热干燥箱内 250℃干烤至少 30 min。也可采用其他适宜的方法除热原。

5.4.2 测温器具

家兔体温测试应使用精密度为±0.1℃的热原测温仪或肛门体温计。

5.4.3 实验室环境

在试验前 1 d~2 d, 供试家兔应处于同一温度环境中, 实验室和饲养室的温度相差不得大于 3℃, 实验室温度应为 17℃~25℃。

在试验全过程中, 室温变化不大于 3℃, 防止动物骚动并避免噪声干扰。

5.4.4 试验用家兔

使用符合中国药典四部《热原检查法》的试验用家兔。

5.5 试验方法

5.5.1 浸提液制备

按第 4 章规定选择适宜的浸提条件。

5.5.2 试验步骤

按中国药典四部《热原检查法》中规定进行, 家兔注射剂量为 10 mL/kg。

5.5.3 结果判定

按中国药典四部《热原检查法》中规定进行判定。

5.6 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 浸提液制备方法；
- d) 注射剂量；

- e) 家兔体温记录;
- f) 结果判定。

6 急性全身毒性试验

6.1 目的

本试验将样品浸提液注入小鼠静脉和腹腔内，在规定时间内观察小鼠有无毒性反应和死亡情况，以判定样品是否具有潜在的急性全身毒性作用。

6.2 浸提介质

氯化钠注射液、精制植物油等。

6.3 主要设备和器具

压力蒸汽灭菌器、恒温振荡培养箱、电子天平、注射器等。

6.4 试验前准备

6.4.1 器具灭菌

与样品/浸提液接触的所有器具置压力蒸汽灭菌器内 121 ℃, 20 min, 或采用其他适宜的灭菌方式。

6.4.2 试验动物准备

6.4.2.1 试验采用健康、初成年小鼠，同一品系并同一来源，雌鼠无孕且未产，体重 17 g~23 g，同一性别的动物体重差异应不超过平均值的±20 %。在试验前使小鼠适应实验室环境。做过本试验的小鼠不得重复使用。

6.4.2.2 每种浸提液用小鼠 10 只，随机分为试验和浸提介质对照两组，每组 5 只。复试时每组取 18 g~19 g 的小鼠 10 只。

6.5 试验方法

6.5.1 浸提液制备

按第 4 章规定选择适宜的浸提条件。同条件制备浸提介质对照液。

6.5.2 浸提液注射

6.5.2.1 自尾静脉分别注入氯化钠注射液浸提液和介质对照液，以不超过 0.1 mL/s 的恒定速度注射，注射剂量为 50 mL/kg。

6.5.2.2 由腹腔分别注入植物油浸提液和介质对照液，注射剂量为 50 mL/kg。

6.5.3 注射后动物反应观察

注射完毕后，观察小鼠即时反应，并于 4 h、(24±2) h、(48±2) h、(72±2) h 观察和记录试验组和对照组动物的一般状态、毒性表现和死亡动物数，在 (24±2) h、(48±2) h、(72±2) h 时称量动物体重。动物反应观察判定按表 2 规定。

表 2 毒性反应观察

临床观察	观察症状	涉及的系统
呼吸	呼吸困难（腹式呼吸、气喘）、呼吸暂停、紫绀、呼吸急促、鼻流血	中枢神经系统（CNS）、肺、心脏
肌肉运动	嗜睡减轻或加重、扶正缺失、感觉缺乏、全身僵硬、共济失调、异常运动、俯卧、震颤、肌束抽搐	CNS、躯体肌肉、感觉、神经肌肉、自主性
痉挛	阵挛、强直、强直性阵挛、昏厥、角弓反张	CNS、神经肌肉、自主性、呼吸
反射	角膜、翻正、牵张、对光、惊跳反射	CNS、感觉、自主性、神经肌肉
眼症状	流泪、瞳孔缩小/散大、眼球突出、上睑下垂、混浊、虹膜炎、结膜炎、血泪症、瞬膜松弛	自主性、刺激性
心血管症状	心动过缓、心动过速、心律不齐、血管舒张、血管收缩	CNS、自主性、心脏、肺
流涎	过多	自主性

立毛	被毛粗糙	自主性
痛觉丧失	反应降低	CNS、感觉
肌肉状态	张力减退、张力亢进	自主性
胃肠	软便、腹泻、呕吐、多尿、鼻液溢	CNS、自主性、感觉、胃肠运动性、肾
皮肤	水肿、红斑	组织损害、刺激性

6.5.4 结果判定

- 6.5.4.1 在 72 h 观察期内，如果试验组小鼠的生物学反应不大于介质对照组小鼠，则该试验样品符合试验要求。
- 6.5.4.2 如果试验组小鼠两只或两只以上出现死亡、或两只或两只以上出现抽搐或俯卧、或三只或三只以上出现体重下降超过 10%，则试验样品不符合试验要求。
- 6.5.4.3 如果试验组小鼠反应轻微，不超过一只小鼠出现生物学反应症状或死亡，则用 10 只小鼠重复试验。如果在重复试验中全部试验组小鼠所表现出的反应不大于介质对照组小鼠，则该试验样品符合试验要求。

6.6 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 浸提液制备方法；
- d) 注射剂量；
- e) 动物反应情况；
- f) 结果判定。

7 与血液相互作用试验

7.1 总体要求

根据样品预期临床用途并按照 GB/T 16886.4 的相关要求选择适宜的试验，合格与否的判定应遵循 GB/T 16886.4 中确定的基本原则。

以下从溶血、血栓形成、凝血、血小板、血液学和补体系统 6 个方面对与血液相互作用的试验进行介绍。

7.2 溶血试验

7.2.1 目的

本试验将样品与血液直接或间接接触，通过测定红细胞释放的血红蛋白量以判定样品的体外溶血程度。

7.2.2 试剂

氯化钠注射液、新鲜抗凝兔血等。

7.2.3 主要设备和器具

电热恒温水浴锅、分光光度计、离心机等。

7.2.4 样品制备

7.2.4.1 间接接触法的浸提液制备

按第 4 章规定选择适宜的浸提条件。

7.2.4.2 直接接触法

取样品各组成部件按照 5 g/10mL 的比例，平行制备 3 份。管类器具切成约 0.5 cm 长小段；其他类

型器具切成约 0.5 cm×2 cm 条状或相应大小块状。

如样品不能采用 5g/10mL 的比例，也可根据 GB/T 16886.12 的原则选择适宜的浸提比例。

7.2.5 新鲜稀释抗凝兔血制备

根据试验用血量采集健康家兔的血液，抗凝剂可使用枸橼酸钠（0.109 mol/L，3.2 %，抗凝剂与血液比例 1:9），或草酸钾（2 %，抗凝剂与血液比例 1:20）。按照抗凝兔血 8 mL，加氯化钠注射液 10 mL 的比例稀释兔血。

7.2.6 试验方法、结果计算和结果判定

按照 YY/T 1651.1 进行。

7.2.7 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 试验方法；
- d) 各组吸光度；
- e) 样品溶血率；
- f) 结果分析和判定。

7.3 体内静脉血栓形成试验

7.3.1 目的

本试验将样品植入动物静脉内，以评价样品在试验条件下血栓形成的潜在性。

7.3.2 试剂

硫喷妥钠或其他麻醉剂、氯化钠注射液、75 %乙醇溶液、肝素钠溶液等。

7.3.3 主要设备和器具

压力蒸汽灭菌器、电子天平、手术器械等。

7.3.4 试验前准备

7.3.4.1 手术器械采用适宜方法灭菌。

7.3.4.2 试验动物采用成年健康犬或羊至少 2 只。

7.3.5 样品和对照品制备

植入之前可根据样品临床使用对样品进行预处理，如用氯化钠注射液进行冲洗等。根据植入部位和器械的形状结构，可能需要创建定制的器械以缩短部件长度，同时保持与最终样品相同的材料比例，如需要可将器械细分为多个试验样本进行试验。样品和对照品植入动物体内约15 cm。

7.3.6 试验步骤和结果判定

按照 YY/T 1770.1 进行。

7.3.7 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 样品制备方法；
- d) 试验方法；
- e) 结果观察；
- f) 结果分析与评价。

7.4 凝血试验

7.4.1 目的

本试验将样品与人或动物抗凝血浆接触，通过观察样品对凝血时间的影响，以评价样品是否为内源凝血系统激活物。

7.4.2 主要设备和器具

水浴摇床、离心机、凝血分析仪、枸橼酸钠抗凝的血液采集管等。

7.4.3 试剂

氯化钙、兔脑磷脂、新鲜枸橼酸钠（0.109 mol/L，3.2%）抗凝人全血或兔血。

注：抗凝剂与人全血或兔血比例为 1：9。

7.4.4 样品和对照品制备

阳性对照品推荐采用玻璃珠或其他适宜材料。阴性对照选择高密度聚乙烯或其他适宜材料，对照样品（可选择）为与试验样品同类型的上市样品。试验中所用血浆作为空白对照。

7.4.5 试验步骤和结果判定

按照 YY/T 1911 进行。

7.4.6 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 试验方法；
- d) 各组试管凝血时间记录；
- e) 各组平均凝血时间和占空白对照的百分比；
- f) 结果分析与评价。

7.5 医疗器械与血小板相互作用试验

7.5.1 目的

本试验通过测定样品与血小板相互作用，以评价样品对血小板功能的潜在影响。

7.5.2 试剂

新鲜枸橼酸钠抗凝人全血或新鲜抗凝兔血。

7.5.3 主要设备和器具

血液分析仪、水浴摇床、离心机、酶标仪等。

7.5.4 试验步骤和结果判定

按照 YY/T 1649.1 或 YY/T 1649.2 进行。

7.5.6 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 试验方法；
- d) 各组血小板数或血小板激活产物含量；
- e) 结果分析与判定。

7.6 血液学试验

7.6.1 目的

本试验将样品与人或动物全血接触，测定接触样品后血液中的白细胞和红细胞计数值，以判定样品对血液学的影响程度。

7.6.2 试剂

新鲜枸橼酸钠抗凝人全血或新鲜抗凝兔血。

7.6.3 主要设备

血液分析仪、水浴摇床等。

7.6.4 样品制备

由器械各组成部件按终产品比例切取试样，与全血接触比例按 GB/T 16886.12 规定并应根据器械材料特性确定适宜比例（例如 $6\text{ cm}^2/\text{mL}$ 或 0.2 g/mL ），应使样品与全血充分接触。

注：每一试管全血体积一般设置为 1.0 mL ，或根据试验需要加大或减小全血体积。

7.6.5 对照组设置

阳性对照品推荐采用黑橡胶、玻璃珠或其他适宜材料。阴性对照选择高密度聚乙烯或其它适宜材料，对照样品（可选择）与试验样品同类型的上市样品。试验中所用全血作为空白对照。

7.6.6 试验步骤

7.6.6.1 制备试验样品、阳性对照、阴性对照、已上市对照样品（如选择）和空白对照，各平行 3 份。所有材料置于试管中，剪成小块保证最大程度的全血接触，每管中加入适量全血。

7.6.6.2 样品与全血在 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 水浴中， 60 rpm 振荡 $(1 \pm 0.1)\text{ h}$ 。

7.6.6.3 孵育 1h 后，转移全血至新的聚丙烯试管中，血液分析仪读取白细胞和红细胞值。

7.6.7 结果计算和评价

7.6.7.1 使用人血时，空白对照的白细胞数量应在 $(4.0 \sim 10.0) \times 10^9/\text{L}$ ，红细胞应在 $(3.5 \sim 5.5) \times 10^{12}/\text{L}$ 范围内。

7.6.7.2 计算每组全血[试验样品、阴性对照、空白对照、已上市对照样品（如选择）]的 3 个白细胞和红细胞值的平均值和标准差。每组 3 管全血的白细胞和红细胞值必须在这个平均值的 $\pm 20\%$ 范围内，如果超出 20% ，则重新进行试验。

7.6.7.3 阳性对照组的白细胞和红细胞计数值应低于阴性对照或空白对照，且差异具有统计学意义（ $p < 0.05$ ）。

7.6.7.4 试验样品与阴性对照或空白对照采用方差分析方法进行统计学分析，如果 p 值 < 0.05 则认为差异具有统计学意义。如果试验样品与阴性对照或空白对照之间无统计学差异，则认为试验样品通过测试。如果试验样品的结果与阴性对照或空白对照相比降低，且具有统计学差异，则试验样品与上市对照器械之间的比较有助于判定试验器械/材料是否可能被临床接受或不接受。

7.6.8 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 试验方法；
- d) 各管白细胞和红细胞计数值；
- e) 各组白细胞和红细胞计数值；
- f) 结果分析和评价。

7.7 补体激活试验

7.7.1 目的

本试验将样品与正常人血清或血浆接触，使用酶联免疫测定技术检验补体系统活化期间形成的 C3a 片段和/或 Sc5b-9 复合物，以判定样品对人血清或血浆补体激活作用的程度。

7.7.2 试剂

健康人血清或血浆（或经验证的动物血清或血浆）、眼镜蛇毒因子（CVF）、酶联免疫测定试剂盒。

7.7.3 主要设备

离心机、水浴摇床、酶标仪等。

7.7.4 样品制备

由器械各组成部件切取试样，与血清或血浆接触比例按 GB/T 16886.12 规定并应根据器械材料特性确定适宜比例（例如 $6 \text{ cm}^2/\text{mL}$ 或 0.2 g/mL ），应使样品与血清或血浆充分接触。

注：每一试管血清或血浆体积一般设置为 1 mL ，或根据试验需要加大血清或血浆体积。

7.7.5 对照组设置

7.7.5.1 阴性对照[例如：高密度聚乙烯（HDPE）]

7.7.5.2 阳性对照（例如：眼镜蛇毒因子）

7.7.5.3 空白对照（未接触材料的血清或血浆）

7.7.5.4 已上市对照样品（已合法上市的同类医疗器械），供选择

7.7.6 试验步骤和结果判定

按照 YY/T 0878.3 进行。

7.7.7 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 试验方法；
- d) 各组吸光度；
- e) 各组 C3a 和/或 Sc5b-9 浓度；
- f) 各组 C3a 和/或 Sc5b-9 浓度值百分比；
- g) 结果分析和评价。

8 细胞毒性试验

8.1 目的

本试验将样品浸提液接触培养细胞，通过对细胞形态、增殖和抑制影响的观察，评价样品在体外对细胞的毒性作用。

8.2 试剂

胰蛋白酶/乙二胺四乙酸（EDTA）溶液、含血清细胞培养液、胎（小）牛血清、四唑盐（MTT）、二甲基亚砜（DMSO）、青霉素、链霉素、磷酸盐缓冲液（PBS）、异丙醇等。

8.3 主要设备和器具

超净工作台、 CO_2 培养箱、恒温振荡培养箱、电冰箱、倒置显微镜、压力蒸汽灭菌器、培养板（皿/瓶）、酶标仪等。

8.4 试验前准备

8.4.1 器具灭菌

与浸提液接触的所有器具应采用可靠方法灭菌，置压力蒸汽灭菌器内 $121 \text{ }^\circ\text{C}$ ， 20 min ，或采用其他适宜的灭菌方式。

8.4.2 MTT 溶液制备

MTT 新鲜溶于不含酚红的 MEM 或 PBS 中，配制成工作浓度为 1 mg/mL 的 MTT 溶液。溶液采用注射过滤器（孔径 $\leq 0.22 \text{ }\mu\text{m}$ ）经无菌过滤法除菌。溶液宜当天使用，注意避光操作。

8.5 试验方法

8.5.1 细胞株

试验用细胞株采用正规供应商提供的 L929（小鼠成纤维细胞）。试验采用传代 $48\text{h} \sim 72\text{h}$ 生长旺盛的细胞。

8.5.2 浸提介质

含血清细胞培养液。

8.5.3 对照组设置

8.5.3.1 阴性对照可采用经确认过的不产生细胞毒性反应的材料，例如高密度聚乙烯。

8.5.3.2 阳性对照可采用经确认过的可重现细胞毒性反应的材料，例如用有机锡作稳定剂的聚氯乙烯或体积分数为 10 % 的二甲基亚砷（DMSO）溶液。

8.5.3.3 空白对照可采用不含试验样品的浸提介质，浸提期间置于与试验样品相同的器皿中，并经受与试验样品相同的条件。

8.5.4 浸提液制备

8.5.4.1 无菌样品直接取样制备浸提液。未灭菌样品宜采用与成品相同的灭菌过程或其他适宜方法灭菌。

8.5.4.2 浸提液制备方法按第 4 章的规定。

8.5.5 细胞悬液制备

将已培养 48 h~72 h 生长旺盛的细胞用消化液消化后加入细胞培养液，吸管吹打混匀后用血球计数板在显微镜下计数，按式（1）计算细胞密度：

$$C = \frac{n}{4} \times 10^4 \cdots \cdots (1)$$

式中：

C —— 细胞密度，个/mL；

n —— 计数板四角四大格内细胞总数，个。

根据实测细胞密度，加入适量细胞培养液配制成试验要求密度的细胞悬液备用。

细胞计数也可采用浊度仪或采用细胞计数仪进行测定。

8.5.6 试验步骤

可选择下列之一方法进行试验：

a) MTT 比色法：

将配制好的 1×10^5 /mL 细胞悬液接种于 96 孔培养板，设空白对照、阴性对照、阳性对照和样品组，每组各设至少 6 孔，每孔接种 100 μ L 细胞悬液。置 CO_2 培养箱（含体积分数 5 % CO_2 气体）37 $^{\circ}\text{C}$ 培养（24 $\pm$ 2）h 后，弃去原培养液。空白对照组加入空白对照浸提液，阴性对照组加入阴性对照浸提液，阳性对照组加入阳性对照溶液或阳性对照浸提液，样品组加入试验样品浸提液，每孔 100 μ L，置 CO_2 培养箱继续培养（24 $\pm$ 2）h。

于更换培养液后的（24 $\pm$ 2）h，置显微镜下观察细胞形态。小心弃尽孔内液体，每孔加入 50 μ L 质量浓度为 1 mg/mL 的 MTT 溶液，继续培养 2 h 后弃去孔内液体，加入 100 μ L 异丙醇，震荡平板至蓝紫色结晶物完全溶解，用酶标仪测定 570 nm 波长下吸光度（参照波长 650 nm），各组分别按式（2）计算相对增殖率：

$$RGR = \frac{A}{A_0} \times 100\% \cdots \cdots (2)$$

式中：

RGR —— 相对增殖率，%；

A —— 样品组（阴性对照、阳性对照组）吸光度平均值；

A_0 —— 空白对照组吸光度平均值。

RGR 按表 3 分级标准判定。阴性对照组的反应应不大于 1 级，阳性对照组至少为 3 级反应。如阴性对照组和阳性对照组反应不成立时应重新试验。

表 3 细胞毒性反应分级

级别	相对增殖率（%）
0	≥ 100
1	80~99

2	50~79
3	30~49
4	0~29

b) 显微镜观察法

将配制好的(1×10⁵)/mL 细胞悬液接种于直径 35 mm 培养皿内，每皿 2 mL。置 CO₂ 培养箱（含体积分数 5 % CO₂ 气体）37 ℃ 培养。

弃去原培养液。阴性对照组加入阴性对照浸提液，阳性对照组加入阳性对照液或阳性对照浸提液，样品组加入试验样品浸提液，每皿各加 2 mL。每组平行操作 3 皿，置 CO₂ 培养箱继续培养(24±2) h。

置显微镜下观察，按表 4 分级标准判定。阴性对照组应为 0 级反应，阳性对照组至少为 3 级反应。如阴性对照组和阳性对照组反应不成立时应重新试验。

表 4 细胞毒性反应分级

级别	反应程度	反应观察
0	无	细胞形态正常，贴壁生长良好，胞浆内有离散颗粒；无细胞溶解
1	极轻	至多 20 % 的细胞呈圆形，疏松贴壁，无胞浆内颗粒；偶见细胞溶解
2	轻度	至多 50 % 的细胞呈圆形，无胞浆内颗粒；明显可见细胞溶解和细胞间空区
3	中度	至多 70 % 的细胞呈圆形或溶解
4	重度	细胞层几乎完全破坏

注：其他适宜的方法见 GB/T 16886.5。

8.6 结果判定

在阴性对照和阳性对照产生预期反应的情况下，分析判定样品细胞毒性反应程度。

注：按本试验检验样品时，一般认为可接受的细胞毒性反应为不大于 2 级。

8.7 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 浸提液制备方法；
- d) 试验用培养基、细胞株和阴性、阳性及其他对照品；
- e) 试验方法；
- f) 细胞反应和其他情况；
- g) 观察结果；
- h) 结果判定。

9 致敏试验（最大剂量法）

9.1 目的

本试验采用样品浸提液与豚鼠皮肤接触，以评价样品在试验条件下引发致敏反应的潜在性。

9.2 试剂

氯化钠注射液、精制植物油、阳性对照溶液（如 2,4-二硝基氯苯）、十二烷基硫酸钠、弗氏完全佐

剂（可购买市售产品或自行配制）。

9.3 主要设备和器具

压力蒸汽灭菌器、恒温振荡培养箱、电剃刀、注射器、电子天平。

9.4 试验前准备

9.4.1 器具灭菌

与样品/浸提液接触的所有器具置压力蒸汽灭菌器内 121℃，20 min，或采用其他适宜的灭菌方式。

9.4.2 试验动物准备

按 GB/T 16886.10 的规定。

9.4.3 弗氏完全佐剂制备

9.4.3.1 无水羊毛脂与液体石蜡的体积比为 4: 6（冬季使用比例为 3: 5）。将无水羊毛脂加热溶解后取 40 mL 置研钵中，稍冷却后边研磨边加液体石蜡，直至 60 mL 液体石蜡加完。置压力蒸汽灭菌器内 121℃，30 min，即制备成弗氏不完全佐剂，4℃保存备用。

9.4.3.2 在弗氏不完全佐剂中按 4 mg/mL~5 mg/mL 加入死的或减毒的分枝杆菌（如卡介苗或结核杆菌），即得弗氏完全佐剂。

9.5 试验方法

9.5.1 浸提介质

氯化钠注射液、精制植物油。

9.5.2 阳性对照液

适宜浓度的 2,4-二硝基氯苯溶液或其他能产生相应阳性反应的液体。

注：2,4-二硝基氯苯溶液的浓度推荐为 0.1%~0.5%，不同阶段可能采用不同的浓度。

9.5.3 浸提液制备

按第 4 章规定选择适宜的浸提条件。同条件制备浸提介质对照液。

9.5.4 试验步骤和结果判定

按 GB/T 16886.10 规定的“最大剂量致敏试验”进行。

9.6 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 浸提液制备方法；
- d) 试验部位观察记分；
- e) 结果判定。

10 皮内反应试验

10.1 目的

本试验将样品浸提液注入兔皮内，以评价样品在试验条件下对接触组织的潜在刺激性。

10.2 浸提介质

氯化钠注射液、精制植物油。

10.3 主要设备和器具

压力蒸汽灭菌器、恒温振荡培养箱、注射器、电子天平等。

10.4 试验前准备

10.4.1 器具灭菌

与样品/浸提液接触的所有器具置压力蒸汽灭菌器内 121℃，20 min，或采用其他适宜的灭菌方式。

10.4.2 试验动物准备

按 GB/T 16886.23 的规定。

10.5 试验方法

10.5.1 浸提液制备

按第4章规定选择适宜的浸提条件。同条件制备浸提介质对照液。

10.5.2 试验步骤和结果判定

按 GB/T 16886.23 规定的“皮内反应试验”进行。

10.6 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 浸提液制备方法；
- d) 试验部位观察记分；
- e) 结果判定。

11 植入后局部反应试验

11.1 目的

本试验将样品/材料植入动物组织内，通过观察植入后试样周围组织反应程度，以评价样品植入后的局部组织反应。

11.2 试剂

麻醉剂、2 %碘酊或碘伏、75 %乙醇溶液、氯化钠注射液等。

11.3 主要设备和器具

压力蒸汽灭菌器、电热干燥箱、常规外科手术器械、穿刺针等。

11.4 试验前准备

11.4.1 器具灭菌

与样品/动物接触的所有器具置压力蒸汽灭菌器内 121 °C，20 min，，或采用其他适宜的灭菌方式。

11.4.2 试验动物准备

按 GB/T 16886.6 的规定选择适宜的动物。

11.4.3 样品、阴性对照和/或对照样品制备

按 GB/T 16886.6 的规定制备相应尺寸的样品、阴性对照和/或对照样品。

11.5 试验方法

11.5.1 植入部位的选择

样品应植入与医疗器械预期临床应用最相关的组织。

11.5.2 试验步骤和结果判定

按 GB/T 16886.6 进行。

11.6 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 试验方法；
- d) 临床观察情况；
- e) 解剖观察情况；
- f) 组织病理学观察结果；
- g) 结果分析和判断。

12 重复接触全身毒性试验

12.1 目的

本试验将样品/浸提液根据临床预期使用用途一次或多次给予试验动物，检测样品/浸提液对试验动物的影响，以判定样品是否具有潜在的重复接触全身毒性作用。

12.2 浸提介质

氯化钠注射液、精制植物油。

12.3 主要设备和器具

压力蒸汽灭菌器、恒温振荡培养箱、电子天平、常规外科手术器械、注射器等。

12.4 试验前准备

12.4.1 器具灭菌

与样品/浸提液接触的所有器具置压力蒸汽灭菌器内 121℃，20 min，或采用其他适宜的灭菌方式。

12.4.2 试验途径和试验周期选择

试验接触途径应尽可能与器械的临床应用相关，按照 GB/T 16886.11 的推荐选择适宜的试验途径和试验周期。

12.4.3 试验动物选择

按 GB/T 16886.11 的规定选择适宜的动物和数量。

12.4.4 样品制备和对照组处理

采用注射途径时，按第 4 章规定选择适宜的浸提条件。同条件制备浸提介质对照液。

12.5 试验方法

12.5.1 试验剂量选择

根据器械材料成分和结构方面的相关数据预期不会出现毒性反应时，可考虑设定单剂量组，根据临床预期使用最大剂量确定试验剂量。如有必要可设定多个剂量水平组。

采用注射途径时，根据评价需求和浸提液具体情况确定注射剂量体积，各动物种属最大注射剂量体积见 GB/T 16886.11。

12.5.2 试验步骤、观察指标和结果评价

按 GB/T 16886.11 进行。

12.6 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 试验动物；
- d) 浸提液制备方法；
- e) 试验接触方法；
- f) 动物观察数据；
- g) 结果评价。

13 遗传毒性试验

13.1 目的

本试验将样品或浸提液作用于适宜的细菌或细胞，检测样品是否具有潜在的遗传毒性作用。单一试验无法检测出所有相关遗传毒性物质。因此，通常进行一组体外试验，在某些特定条件下还宜进行体内试验。

13.2 浸提介质

氯化钠注射液、无血清或含血清的细胞培养基或精制植物油或二甲基亚砜等。

13.3 主要设备和器具

压力蒸汽灭菌器、电子天平、生物安全柜、CO₂ 培养箱、恒温振荡培养箱、恒温水浴箱、光学显微

镜、培养板（皿）等。

13.4 试验前准备

13.4.1 器具灭菌

与样品/浸提液接触的所有器具置压力蒸汽灭菌器内 121 °C，20 min，或采用其他适宜的灭菌方式。

13.4.2 样品制备和对照液

按第 4 章规定选择适宜的浸提条件。同条件制备浸提介质对照液。

13.5 试验方法

13.5.1 试验组合

按照 GB/T 16886.3 的规定选择适宜的试验方法组合。

13.5.2 试验步骤和结果评价

按 GB/T 16886.3 和 YY/T 0870（所有部分）进行。

13.6 试验报告

试验报告中宜给出下列信息：

- a) 样品名称；
- b) 生产批号；
- c) 浸提液制备方法；
- d) 试验方法；
- e) 试验用培养基、细胞株（菌株）和阴性、阳性及其他对照品；
- f) 观察数据；
- g) 结果评价。

参考文献

- [1] 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
 - [2] 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
-

征求意见稿