

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1292.5—XXXX

医疗器械生殖和发育毒性试验
第5部分：扩展的一代生殖毒性试验

Test for reproductive and developmental toxicity of medical devices—
Part 5: Extended one-generation reproductive toxicity study

征求意见稿

2025.06

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX-XX-XX 发布

XXXX-XX-XX 实施

国家药品监督管理局 发布

目 录

目 录	I
前 言	II
引 言	III
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 仪器设备	1
5 试验动物	1
5.1 总体要求	1
5.2 动物选择及管理	1
6 试验步骤	1
6.1 接触途径	1
6.2 剂量及分组	1
6.3 试验设计	2
6.4 动物交配	2
6.5 子代数量	2
7 观察指标	2
7.1 临床观察	2
7.2 体重和食物耗料量	3
7.3 血液、生化和尿液检测	3
7.4 精子检测	3
7.5 发情周期	3
7.6 子代参数	3
7.7 评价子代的神经发育毒性(队列 2A 和 2B)	4
7.8 免疫发育毒性	4
7.9 潜在生殖毒性后续评价(队列 1B)	4
8 病理学检查	4
8.1 大体解剖	5
8.2 组织或器官摘取、称重及保存	5
8.3 组织病理学检查	5
9 数据处理	5
10 结果评价	5
11 试验报告	6
参考文献	7

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 1292《医疗器械生殖和发育毒性试验》的第5部分。YY/T 1292已经发布了以下部分：

- 第1部分：筛选试验；
- 第2部分：胚胎发育毒性试验；
- 第3部分：一代生殖毒性试验；
- 第4部分：两代生殖毒性试验；
- 第5部分：扩展的一代生殖毒性试验。

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。

本文件由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会（SAC/TC248）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

引 言

GB/T 16886.3中给出的检测潜在生殖和发育毒性物质的试验方法均为经济合作与发展组织(OECD)《化学品测试指南》中规定的方法,但这些方法是针对化学品的特性制定而成,同时未给出详细的试验步骤,因此不适宜直接用于医疗器械/材料的检测。

医疗器械/材料的生殖和发育毒性潜力对人类健康具有极其重要的影响。扩展一代生殖毒性试验评价了未在其他毒性研究中涵盖的特定生命阶段、出生前后接触医疗器械/材料可能产生的影响,以及在妊娠和哺乳期雌性亲代及其子代在幼年和成年时的全面系统毒性。

YY/T 1292旨在建立医疗器械生殖和发育毒性研究的试验方法,拟由5个部分构成。

- 第1部分: 筛选试验。目的在于为评估医疗器械或材料筛选提供试验方法。
- 第2部分: 胚胎发育毒性试验。目的在于为评估医疗器械/材料胚胎发育毒性提供试验方法。
- 第3部分: 一代生殖毒性试验。目的在于为评估医疗器械/材料一代生殖毒性提供试验方法。
- 第4部分: 两代生殖毒性试验。目的在于为评估医疗器械/材料二代生殖毒性提供试验方法。
- 第5部分: 扩展的一代生殖毒性试验。目的在于为评估医疗器械/材料扩展的一代生殖毒性提供试验方法。

医疗器械生殖和发育毒性试验 第5部分：扩展的一代生殖毒性试验

1 范围

本文件规定了对医疗器械/材料进行扩展的一代生殖毒性评价的试验方法。
本文件适用于医疗器械/材料扩展的一代生殖毒性评价。

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 16886.2 医疗器械生物学评价 第2部分：动物福利要求

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/T14925 实验动物环境及设施

3 术语和定义

GB/T 16886.3界定的术语和定义适用于本文件。

4 仪器设备

生物显微镜、体视显微镜、游标卡尺、动物精子分析仪、多功能酶标仪、血液生化仪、包埋机、切片机、流式细胞仪、尿液分析仪、动物行为分析系统等。

5 试验动物

5.1 总体要求

所有的动物试验均应在实验动物使用许可的机构内进行，并应遵守与试验动物福利有关的全部适用法规，以符合GB/T 16886.2的要求。

5.2 动物选择及管理

推荐使用健康、性成熟大鼠(5周龄~9周龄)。在研究的开始阶段，同一性别的动物体重差异应不超过平均值的±20%。如果使用了其他种属，宜进行适当的论证。不宜使用低繁育力的种属。每组应包含足够数量的动物以得到至少20只的妊娠动物从而获取20窝子代，以确保能够对受试验样品影响下的亲代(P代)的生殖、妊娠和哺乳以及子一代(F1代)从受孕到成熟期间的生长和发育情况进行有意义的评价。

试验动物的饲养环境应符合GB/T 14925的要求。妊娠雌性动物宜单笼饲养并提供舒适的垫料。

6 试验步骤

6.1 接触途径

试验接触途径应尽可能与医疗器械/材料的应用有临床相关性。

6.2 剂量及分组

在单一种属动物中进行适宜剂量的单剂量组试验组可用来判断是否存在毒性危害（即限度试验）。一般采用最大耐受剂量或动物模型的生理限量作为动物接触的最大剂量，该剂量应为估计的人体最大接触剂量（以克每千克或平方厘米每千克表示）的倍数。

对照组动物除不给予试验样品外，应与试验组动物处理方式相同。

6.3 试验设计

P代雄性大鼠在适应环境至少5天后开始给予试验样品，并在合笼前持续给予10周。合笼结束时处死，进行大体解剖和生殖指标等检测。

P代雌性大鼠在适应环境至少5天后开始给予试验样品，并在合笼前持续给予至少2周。宜在合笼期、妊娠期直至F1代断乳期间持续给予试验样品。在F1代断乳后处死，进行大体解剖和生殖指标等检测。

各组断乳后的F1代雌、雄仔鼠，根据检测目的随机分配至该组各评价队列中，并给予试验样品直到相应队列指标完成检测。F1代各队列试验设计见表1。

表1 F1代各队列试验设计

亲代	队列	检测目的	动物数量	性成熟	处死时周龄
每组 20 窝	1A	生殖毒性	20 雄+20 雌 ^a	是	13
	1B	生殖毒性	20 雄+20 雌 ^a	是	14 或 20~25
	2A	神经毒性	10 雄+10 雌 ^b	否	3
	2B	神经毒性	10 雄+10 雌 ^b	是	11~12
	3	免疫毒性	10 雄+10 雌 ^b	是	8
注：剩余F1代仔鼠备用。					
^a 20窝，每窝2只，尽量能代表整个组。					
^b 20窝，每窝1只，尽量能代表整个组。					

6.4 动物交配

6.4.1 使用1:1（一只雄性配对一只雌性）或1:2（一只雄性配对两只雌性）的比例合笼。每日早晨宜检查雌鼠阴道有无精子或阴栓，并将检查到精子或阴栓的当天规定为妊娠的第0天。如果2周后仍未交配成功，动物应分离并且不再交配。P代动物不宜进行第二次交配以避免丢失如着床位点数目等重要信息。

6.4.2 如F1代1A组大鼠的试验结果提示试验样品可能存在生殖毒性作用时，1B队列的雄雌大鼠（14周龄）除可通过处死后进行病理检查给予证明外，还可通过持续给予试验样品至少到出生后第90天（但不超过120天），再进行雌雄交配（避免同窝的雌雄大鼠进行交配）以获得F2代动物的方式对潜在的生殖毒性作用进行评价。

6.5 子代数量

F1代出生后第4天时，采用随机的方式（而不是以体重为依据）将每窝子代大鼠调整到5雄和5雌。也可根据实际情况进行调整（如6雄和4雌），但每窝仔鼠数应不少于10只。

7 观察指标

7.1 临床观察

对于P代和选定的F1代动物，试验期间应每天进行一次一般临床观察。观察的症状应包括皮肤、被毛、眼睛、黏膜、分泌物和排泄物的产生和自主神经活动的变化（如流泪、毛发直立、瞳孔大小、不寻常的呼吸模式）等；如出现相关的动物毒性反应、发病、死亡以及行为变化如中毒、难产或延期分娩等症状，应进行记录。

每周在称重时对所有的P代和F1代动物（断乳后）进行一次详细临床观察并记录，观察的症状除包含一般临床观察内容外还包括步态、姿势、触摸反应；另外，如发现阵挛或强直动作，机械性重复行为（如过度理毛、重复转圈）或怪异行为（如自残、倒退）等，也应进行记录。

7.2 体重和食物耗料量

P代雄鼠应在试验开始当天称重，并在之后至少每周称重一次，直至试验样品给予10周结束。

P代雌鼠应在试验开始当天称重，并在之后至少每周称重一次；在妊娠期第0天、第7天、第14天和第20天或者第21天称重；分娩后第0天、第4天、第7天、第14天、第21天称重。

F1代仔鼠出生后第0（或1）天、第4天、第7天、第14天时称窝重，第21天断乳时按只称重。断乳后至少每周称重一次，直至相应试验结束。

各代所有大鼠完成相关试验指标测定后处死时都应称重。此外，试验中P代和F1代动物在进行称重的当天测量食物消耗量（交配期间除外）。

7.3 血液、生化和尿液检测

P代大鼠相关试验结束时，每组分别随机选择雄鼠和雌鼠各10只，按程序采集血液样本、尿液后进行血液学、血液生化、尿液检测。F1代大鼠队列1相关试验结束时，每个剂量组分别随机选择1A组的雄鼠和雌鼠各10只，按程序采集血液样本、尿液后进行血液学、血液生化、尿液检测。

T4、TSH、性激素检测不作为常规检测项目，仅在预期或观察到有异常或可疑结果的情况下才考虑进行。

注：血液学检测指标包括血细胞比容、血红蛋白浓度、红细胞计数、白细胞总数和分类计数、血小板计数和凝血时间/潜在凝血时间。血液生化检测指标包括血糖、总胆固醇、尿素、肌酐、总蛋白、白蛋白和至少有两个表示肝细胞损伤的酶（如丙氨酸氨基转移酶、谷草转氨酶、碱性磷酸酶、 γ 谷氨酰转氨酶和山梨醇脱氢酶）。尿液检测包括外观、渗透压或比重、pH、蛋白质、尿糖等。

7.4 精子检测

每组P代和F1代1A队列中的雄性大鼠在所对应的试验结束时，摘取附睾尾（或输精管）收集精子，制备精子悬液，显微镜下计数，计算精子总数。

每只动物至少检查200个精子，以便区分精子形态为正常（头部、中段和尾均正常）或者异常（如精子头的融合、分离，精子头和/或尾的异常）。另外，可通过仪器辅助分析精子活力等。

精子指标的检测应在大鼠处死后立即进行，且收集过程应尽量减少精子损失。

7.5 发情周期

P代雌性大鼠在开始给予试验样品后对其进行发情周期的评价（阴道细胞学检查），持续到确认交配成功或交配期结束。如果P代雌性大鼠在开始给予试验样品后出现一些与生殖毒性无关的效应（如摄食量明显减少等），应考虑将交配前试验样品给予时间延长2周（即交配前给予试验样品4周），以便雌性大鼠更好地适应试验样品。

F1代发情周期的评价主要通过队列1的检查完成。1A组的雌性大鼠在确定阴道开放日期后，每天对其进行阴道涂片检查，记录第一次发现典型角质化上皮细胞的时间，进而获得相应的间隔日期。F1代1A队列中的雌性大鼠自出生后75天左右开始，应再次对其进行发情周期的检查和记录，检查为期2周。

另外，如按照6.4.2中的1B组大鼠继续进行交配以获得F2代，对其发情周期也应进行检查，观察时间应从配对开始到确认交配成功。

7.6 子代参数

分娩后（出生后第0或1天）应尽快地检查每窝仔鼠，应记录仔鼠的数量、性别、死胎数、活胎数，以及出现的外观异常（外部可见的畸形，包括腭裂、皮下出血、异常皮肤颜色或纹理、有脐带、有干性分泌物），其中死亡的仔鼠应检查并记录可能存在的缺陷或死亡的原因。

仔鼠体重称量和临床观察同时开展，分别在出生后第0（或1）、4、7、14和21天进行，如有特殊情况应增加临床观察的频次。临床观察内容包括外部结构异常，皮肤、被毛、眼睛、黏膜的改变、分泌物和排泄物的出现和自主活动的改变。如发现步态、姿势、对触摸的反应发生改变，以及出现阵挛或强直动作、刻板或怪异的行为也应记录。

以窝为单位，检查并记录F1代各组仔鼠生理发育指标。生理发育指标包括：耳廓分离、睁眼、张耳、出毛、门齿萌出时间等；雌性阴道张开或雄性睾丸下降的时间；出生后第4天，测量肛门与生殖器的距离（AGD）；出生后第12或13天，所有雌性仔鼠检查乳头/乳晕。

如果性成熟发生得早，在预计的包皮分离或阴道开口出现之前，所有被选择的F1代雌雄动物应每天评价这些终点。应注意任何生殖器官异常，如持续阴道口开放，尿道下裂或阴茎裂开。通过检测包皮分离或阴道开口时鼠龄和体重，比较性成熟F1代动物的生理发育情况。

7.7 评价子代的神经发育毒性(队列 2A 和 2B)

7.7.1 神经发育毒性检查

各剂量组队列2的大鼠用于神经发育毒性评价，其中2B队列大鼠（10只雄鼠和10只雌鼠）开展听觉惊吓、功能观察、活动度测试和神经病理学检查，2A队列大鼠（10只雄鼠和10只雌鼠）在出生后第21（或22）天处死后进行神经病理学检查。

7.7.2 听觉惊吓检测

在出生后第24±1天时，对2B队列的大鼠进行听觉惊吓测试。在进行听觉惊吓测试时，应使实验条件优化到每次测试条件较为稳定。试验样品组和对照组交叉进行测试，所有检测的动物均应测试50次，10次为一组，共5组，记录每组测试动物的平均反应振幅。

7.7.3 神经系统功能观察组合检测

在出生后第63至75天间，对2B队列大鼠进行神经系统功能观察组合检测。功能观察组合包括试验对象外观的详细描述、行为和功能的协调性。主要内容为：

- a) 笼内一般状况观察,包括动物进食、饮水、睡觉、无运动活动/清醒、绕笼内运动、竖毛、攻击同笼动物、发声、理毛;
- b) 觉醒包括唤醒反应、手指逼近、头部触摸、僵住症、异常行为、视觉位置感、被动体位反应;
- c) 情绪包括畏惧、理毛行为、攻击性/应激性、易怒、异常发声;
- d) 运动活动/共济失调包括体态、自主活动、共济失调步态、直立;
- e) 中枢兴奋包括抽搐、癫痫、震颤、惊恐反应、对挟按尾部的敏感性;
- f) 肌张力包括低肌张力步态、握力、身体张力、腹部张力、肢体张力;
- g) 反射包括睑闭反射、耳廓反射、后肢反射、地面翻正反射、空中翻正反射;
- h) 心血管/呼吸系统包括呼吸、心率、皮肤颜色、发绀;
- i) 自主体征包括扭体症状、尾巴体位、竖毛、流泪、血泪、流涎、眼睛张开、突眼、瞳孔、排尿、排便、粪便黏稠度、尿液颜色、动物死亡。

上述观察应在自由移动的活动场所（开阔场地）或居住的笼内进行，试验动物按照最少互动到最多互动的顺序来进行。

7.7.4 神经行为指标检测

对2B队列大鼠进行学习记忆能力检测，推荐使用主动回避试验（单路、双路、爬杆试验）、被动回避试验（跳台试验、穿盒试验）或 Morris 水迷宫试验等试验方法。

7.8 免疫发育毒性

在出生后第56(±3)天,队列3中每组的10雄10雌(每窝1雄或1雌;所有的窝至少随机选择1个子代)用于测血清中的IgG、IgM、C3抗体水平。

免疫效应评价可不作为常规检查项目。必要时，F1代大鼠队列1A相关试验结束时，从每组分别随机选择雄鼠和雌鼠各10只，进行出生前或出生后接触导致的免疫效应评价，包括对接触途径相关和距离较远的淋巴结进行称重，对脾脏细胞进行表型分析（T细胞、B细胞、NK细胞）。

7.9 潜在生殖毒性后续评价(队列 1B)

如F1代1A组大鼠的试验结果提示试验样品可能存在生殖毒性作用时，1B队列的雄雌大鼠（14周龄）除可通过处死后进行病理检查给予证明外，还应通过持续给予试验样品至少到出生后第90天（但不超过120天），再进行雌雄交配（避免同窝的雌雄大鼠进行交配）以获得F2代动物的方式对潜在的生殖毒性作用进行评价，处理方式与P代动物相同。在F2代仔鼠到达出生后第4天时，如获得的试验数据能够说明具有生殖毒性时可结束试验。

8 病理学检查

8.1 大体解剖

在试验终止时或试验期间出现死亡时，所有的 P 代和 F1 代动物应进行大体解剖，观察分析任何结构异常情况或病理性改变，其中应特别关注生殖系统器官是否存在异常。已死亡的或濒死情况下处死的仔鼠，应进行大体解剖并分析可能的缺陷和（或）死亡的原因，并放入固定液保存。

对于成年 P 代和 F1 代雌性大鼠进行大体解剖时，解剖当天应进行阴道涂片来确定发情周期的情况，并与其生殖器官组织病理学检查结果结合考虑；检查所有 P 代雌鼠（如按照 6.4.2 中 F1 代 1B 组继续交配，则也应检查）子宫着床点是否存在并计数，检查方式不应影响组织病理学的评价。

8.2 组织或器官摘取、称重及保存

8.2.1 所有 P 代和 F1 代相关队列中成年雌雄大鼠相应试验终止时，解剖后应摘取下列脏器，称重（除非有特殊要求，成对脏器应单独或合并称重）后选取合适固定液进行保存。

应称重并计算脏器系数的器官为脑、肝脏、肾脏、心脏、脾脏、胸腺、垂体、甲状腺（含甲状旁腺）、肾上腺、子宫（包括输卵管和子宫颈）、睾丸、附睾（用于精子计数的尾部和整体）。

应进行组织病理学检查的组织或器官为脑、肝脏、肾脏、心脏、脾脏、胸腺、垂体、甲状腺（含甲状旁腺）、肾上腺、子宫（包括输卵管和子宫颈）、睾丸、附睾（用于精子计数的尾部和整体）卵巢、前列腺（结合背侧和腹侧部分）、带有凝固腺体的精囊和其中的液体（作为一个整体）、淋巴结（一个与接触途径相关，另一个在较远距离）。

队列 1A 中结果确定或怀疑试验样品为生殖或者内分泌毒物，队列 2B 还需取末梢神经、肌肉、脊髓、眼球及视神经、胃肠道、膀胱、肺、气管（带有甲状腺和附属的甲状旁腺）、骨髓、输精管（雄性）、乳腺（雄性和雌性）以及阴道进行病理学检查。

8.2.2 F1 代 2A 组大鼠在出生后第 21（或 22）天处死，在摘取脑称量后进行神经组织病理学检查；F1 代 2B 组的大鼠在行为测试结束后处死，摘取脑，称重后开展神经组织病理学检查。

8.2.3 F1 代未入选相应队列剩余的仔鼠，应在出生后第 22 天（断乳后）处死，除非试验结果表明可能利用这部分动物开展进一步的评价。上述处死的仔鼠均应进行大体解剖，并对生殖器官进行评价。另外，从尽可能多的窝中得到每组每个性别 10 只仔鼠，对其脑、脾脏和胸腺称重并保存。

8.3 组织病理学检查

8.3.1 P 代

P 代大鼠试验结束时按照 8.2.1 摘取的器官应进行组织病理学检查。如出现 8.2.1 中的队列 1A 中结果确定或怀疑试验样品为生殖或者内分泌毒物时，对精子进行分期检查。

8.3.2 F1 代

1A 队列的器官应进行组织病理学检查。另外，如果从 1A 队列动物得到的结果仍存在可疑，应对 1B 队列动物进行组织学检查加以验证。

在出生后第 21（或 22）天，2A 队列的大鼠摘取脑等组织后进行脑组织病理学检查；在完成神经行为测试之后（在出生 75 天后，但不超过 90 天），2B 队列大鼠摘取脑等组织后进行神经组织病理学检查。

对于 2A 和 2B 队列的大鼠，通过脑多切面的方式全面检查大脑嗅球、大脑皮层、海马体、基底神经节、丘脑、下丘脑、中脑（被囊、被盖和大脑脚）、脑干和小脑。另外，在上述检查基础上，2B 队列大鼠宜增加眼（视网膜和视神经）和周围神经标本、肌肉和脊髓检查。

9 数据处理

将所有的数据和结果以表格形式进行统计和总结。表中应显示每组的试验动物数、交配的雄性动物数、受孕的雌性动物数、各种毒性反应及其出现动物百分数。生殖、生理发育指标数据，应以窝为单位统计。

神经发育毒性以及病理检查等结果应以适当的方法进行统计学分析。计量资料采用方差分析，进行多个试验组与对照组之间均数比较，分类资料采用 Fisher 精确分布检验、卡方检验、秩和检验，等级资料采用 Ridit 分析、秩和检验等。

10 结果评价

比较试验样品组动物与对照组动物观察指标和病理学检查结果是否有显著性差异，以评定试验样品有无生殖发育毒性。同时还应根据出现统计学差异的指标（如体重、生理发育指标、神经功能观察、神经发育毒性、发育免疫毒性、大体解剖和病理组织学检查结果等），进一步估计生殖发育毒性的作用特点。

11 试验报告

试验报告宜包括以下内容：

- a) 试验样品；
- b) 试验动物：物种、品系、级别、数量、体重、性别、来源，动物检疫和适应情况，饲养环境，饲料来源等；
- c) 试验方法：试验分组、每组动物数、剂量选择依据、试验样品给予途径及期限、观察指标、统计学方法；
- d) 试验结果：
 - 1) 生殖毒性检测结果：
 - 试验动物的体重，摄食量，食物利用率（除了交配和哺乳期间）；
 - 所选择断乳后 F1 代动物的体重；
 - 在研究过程中死亡的时间或者是否在试验结束有存活的动物；
 - 临床观察症状的性质、严重程度和持续时间（是否是可逆的）；
 - 血液、生化和尿液分析的结果；
 - 正常或异常发情周期的 P 代和 F1 代雌性动物的数目；
 - 交配的时间（开始交配至交配成功的天数）；
 - 对生殖的毒性或其他影响，包括完成交配、妊娠、分娩和哺乳的动物数目以及百分比，成功交配的雄性的数目和百分比，有难产/延长或难分娩症状的雌性数目和百分比；
 - 孕期、分娩期（可记录的话）的时长；
 - 着床数量、窝大小和仔鼠性别比；
 - 着床后流产的数量，活胎和死胎的数目和百分比；
 - 仔鼠窝重量；
 - 肉眼观察明显的异常幼仔的数量；
 - 仔鼠生理发育指标结果；
 - F1 代大鼠动物性成熟指标的数据；
 - P 代和 F1 代大鼠宰杀时的体重、绝对和相对器官重量数据；
 - 大体解剖和组织病理学检查结果；
 - P 代和 F1 代雄性附睾尾部精子活性和形态分析结果。
 - 2) 神经发育毒性检测结果：
 - 听觉惊吓测试的分析结果；
 - 神经系统功能观察组合指标，以及对结果评分操作的说明；
 - 神经行为发育指标测试分析的结果；
 - 神经病理大体解剖和组织病理学检查结果。
 - 3) 发育免疫毒性检测结果；
 - 4) 试验结果统计分析的结果。

参考文献

- [1] GB/T 15193.29-2020 食品安全国家标准 扩展一代生殖毒性试验
- [2] GB/T 35525-2017 化学品 扩展的一代繁殖毒性试验
- [3] OECD (2018) Extended one-generation reproductive toxicity study, OECD GUIDELINE FOR THE TESTING OF CHEMICALS No. 443.
- [4] 袁伯俊, 廖明阳, 李波. 药物毒理学实验方法与技术 [M]. 化学工业出版社, 2007.

征求意见稿