ICS 11.100
C 30

中华人民共和国国家标准

GB/T 16886.3—2019/ISO 10993-3:2014
代替 GB/T 16886.3—2008

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

**Biological evaluation of medical devices—
Part 3:Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity**

(ISO 10993-3:2014,IDT)

2019-06-04 发布　　2020-01-01 实施

国家市场监督管理总局
中国国家标准化管理委员会　发布

前　言

GB/T 16886《医疗器械生物学评价》由下列部分组成：

——第 1 部分：风险管理过程中的评价与试验；

——第 2 部分：动物福利要求；

——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 9 部分：潜在降解产物的定性和定量构架；

——第 10 部分：刺激与皮肤致敏试验；

——第 11 部分：全身毒性试验；

——第 12 部分：样品制备与参照材料；

——第 13 部分：聚合物医疗器械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：降解产物与可沥滤物毒代动力学研究设计；

——第 17 部分：可沥滤物允许限量的建立；

——第 18 部分：材料化学表征；

——第 19 部分：材料物理化学、形态学和表面特性表征；

——第 20 部分：医疗器械免疫毒理学试验原则和方法。

本部分为 GB/T 16886 的第 3 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分代替 GB/T 16886.3—2008《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》。与 GB/T 16886.3—2008 相比，除编辑性修改外主要技术变化如下：

——通过增加体内测试和后续评价改变试验策略；

——增加附录 A“遗传毒性试验中选择适宜样品制备程序指南”；

——增加进一步的体外和体内试验，以评估医疗器械的遗传毒性潜能；

——增加了附录 B“后续评价流程图”；

——原附录 C 更改为附录 E“植入研究用于致癌性研究的考虑”并制定了规范；

——增加了附录 F“体外胚胎毒性试验”。

本部分使用翻译法等同采用 ISO 10993-3:2014《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》。

与本部分中规范性引用的国际文件有一致性对应关系的我国文件如下：

——GB/T 16886.1—2011　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（ISO 10993-1:2009，IDT）

——GB/T 16886.2—2011　医疗器械生物学评价　第 2 部分：动物福利要求（ISO 10993-2:2006，IDT）

——GB/T 16886.6—2015　医疗器械生物学评价　第 6 部分：植入后局部反应试验（ISO 10993-6:2007，IDT）

——GB/T 16886.12—2017　医疗器械生物学评价　第 12 部分：样品制备与参照材料（ISO 10993-12:2012，IDT）

——GB/T 16886.18—2011 医疗器械生物学评价 第18部分:材料化学表征(ISO 10993-18:2005)

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这些专利的责任。

本部分由国家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(SAC/TC 248)归口。

本部分起草单位:山东省医疗器械产品质量检验中心、四川大学。

本部分主要起草人:侯丽、孙晓霞、梁洁、袁畯、李秋。

本部分所代替标准的历次版本发布情况为:

——GB/T 16886.3—1997、GB/T 16886.3—2008。

引　言

医疗器械生物学评价通常以经验为基础，对人体安全性方面的关注是推动其发展的动力。诸如癌症或第二代畸形之类的严重和不可逆作用的风险尤其为公众所瞩目。在提供安全医疗器械的过程中，此类风险被最大程度地降至最低。有关诱变、致癌和生殖危险(源)的评定是此类风险控制的基本组成部分。目前遗传毒性、致癌性或生殖毒性评定方面的试验方法并非都得到了很好的发展，而且在医疗器械测试中的有效性也未能得到充分确认。

由于在试验样品的尺寸和制备、对疾病过程的科学认知和试验确认方面存在较大争议，因此现有的方法具有局限性。例如，目前对固态致癌性的生物学意义知之甚少，期望随着科学和医疗技术的进步，将会改变对这些重要的毒理学作用的认识和理解。在制定本文件时，所推荐的试验方法是诸多方法中最可被接受的。其他替代试验只要在科学上能进行相关安全性评定也是可接受的。

当需要评价某一具体医疗器械而选择试验时，只能对预期的人体应用和器械与各种生物系统之间潜在的相互作用进行详细的评定，这在生殖和发育毒理学领域中尤为重要。

GB/T 16886 的本部分给出了用于检测特殊生物学危险(源)的试验方法以及试验的选择策略，在有些情况下有助于危险(源)的识别。试验对于接触医疗器械材料的毒理学风险的管理并非总是必要的或有用的，但在适当时，达到最大试验灵敏度还是非常重要的。

由于可能出现多种结果以及影响结果的重要因素较多，如试验样品接触的程度、种属差异以及机械或物理方面的因素，因此需要根据具体情况对结果进行风险评定。

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

1 范围

GB/T 16886的本部分规定了风险估计、危险(源)识别试验的选择和风险管理的策略,以及由于接触医疗器械引起的以下潜在不可逆的生物学作用的可能性:

——遗传毒性;

——致癌性;

——生殖和发育毒性。

本部分适用于对已确定具有潜在的遗传毒性、致癌性或生殖毒性的医疗器械进行评价。

注:ISO 10993-1中给出了试验选择指南。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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。

ISO 10993-1 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(Biological evaluation of medical devices—Part 1: Evaluation and testing within a risk management process)

ISO 10993-2 医疗器械生物学评价 第2部分:动物福利要求(Biological evaluation of medical devices—Part 2: Animal welfare requirements)

ISO 10993-6 医疗器械生物学评价 第6部分:植入后局部反应试验(Biological evaluation of medical devices—Part 6: Tests for local effects after implantation)

ISO 10993-12 医疗器械生物学评价 第12部分:样品制备与参照材料(Biological evaluation of medical devices—Part 12: Sample preparation and reference materials)

ISO 10993-18 医疗器械生物学评价 第18部分:材料化学表征(Biological evaluation of medical devices—Part 18: Chemical characterization of materials)

OECD 414 胚胎发育毒性研究(Prenatal Development Toxicity Study)

OECD 415 一代生殖毒性研究(One-Generation Reproduction Toxicity Study)

OECD 416 二代生殖毒性研究(Two-Generation Reproduction Toxicity)

OECD 421 生殖、发育毒性筛选试验(Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test)

OECD 451 致癌性研究(Carcinogenicity Studies)

OECD 453 慢性毒性、致癌性综合研究(Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies)

OECD 471 细菌回复突变试验(Bacterial Reverse Mutation Test)

OECD 473 体外哺乳动物染色体畸变试验(In vitro Mammalian Chromosome Aberration Test)

OECD 476 用Hprt和Xprt基因进行的体外哺乳动物细胞基因突变试验(In Vitro Mammalian Cell Gene Mutation Tests using the Hprt and Xprt genes)

OECD 487 体外哺乳动物细胞微核试验(In Vitro Mammalian Cell Micronucleus Test)

3 术语和定义

ISO 10993-1和ISO 10993-12界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

致癌性试验　carcinogenicity test

在实验动物寿命周期的主要阶段，医疗器械、材料和(或)浸提液多次接触试验动物以测定其致癌潜能的试验。

3.2

储能医疗器械　energy-depositing medical device

靠释放电磁辐射、离子辐射或超声起到治疗或诊断作用的器械。

注：不包括输送简单电流的器械，如电灸器、起搏器或功能性电刺激器。

3.3

遗传毒性试验　genotoxicity test

采用哺乳动物或非哺乳动物细胞、细菌、酵母菌、真菌或整体动物测定试验样品是否会引起基因突变、染色体结构畸变以及其他 DNA 或基因变化的试验。

3.4

最大耐受量　maximum tolerated dose;MTD

在不出现任何不良反应的情况下，试验动物可耐受的最大剂量。

3.5

生殖和发育毒性试验　reproductive and developmental toxicity test

评价试验样品对生殖功能、胚胎形态(致畸性)以及胎儿和生后早期发育潜在影响的试验。

3.6

试验样品制备　test sample preparation

将残留物、可浸提物、可沥滤物或生物可降解器械材料重悬于与该试验系统相容的某一介质中。

4　试验策略要求

4.1　总则

ISO 10993-1 中给出了在整个生物学安全性评价过程中需要考虑的可能引起遗传毒性、致癌性和生殖毒性的危险(源)的情况。应在风险评定的基础上对研究这些危险(源)的试验进行论证。在确定器械是否进行遗传毒性、致癌性和生殖毒性试验的风险评定中应包括下列因素：

——该器械材料化学成分的分析，包括加工过程残留物和降解产物或代谢产物，以根据其结构-活性关系或以前在化学分类中证明的相关毒性来识别关注的原因；

——如可能，考虑毒性反应的机理；

——已有与该医疗器械的遗传毒性、致癌性和生殖毒性评价的相关信息；

——可比材料在相关应用中的先前使用程度；

——考虑器械终产品残留物的表征程度及它们潜在生物学活性(如，结构-活性关系，或相关结果以前的论证)；

——接触途径；

——患者群体；

——局部(植入或使用的部位)和全身的接触程度和接触周期；

——试验结果(或不进行试验)对风险管理判断的预期影响；和

——与等同器械比较时，接触器械程度或器械尺寸的增加引起的患者预期接触残留物类型和量值的改变。

通常使用的风险评定工具[如 TTC[1)]]可能有助于评价这些因素。

1)　TTC 为“毒理学关注阈值(Threshold toxicological concern)”的缩略语。

当器械材料的成分分析提示有关注的化学组分存在但却缺少足够毒理学数据时，应考虑对各化学物进行试验。对各化学物试验应优先于复合材料或浸提液试验，这将有助于提高风险估计。当一个器械确定进行试验时，应使用器械终产品（包括灭菌，如适用）或终产品的代表性部分，或与终产品（包括灭菌，如适用）相同加工方式的材料，进行试验的决定和试验样品的特性应进行论证并形成文件。

试验可能还要在器械的其他状态下进行，诸如从器械上产生的摩擦碎片或原位固化的材料（如骨水泥、黏合剂和聚合前混合物），除非毒理学风险评定表明无需关注器械/材料的其他状态。ISO 10993-12中给出了原位固化器械的指南。

4.2 致癌性试验的附加要求

对于致癌性试验，除了4.1外，还应说明下列因素：

——物理特性（如颗粒大小和形状、孔径大小、表面连续性、表面状态、器械厚度）；

——遗传毒性、植入和其他研究结果。

4.3 生殖毒性试验的附加要求

对于生殖毒性试验，除了4.1外，还应说明器械与生殖组织、胚胎/胎儿或生殖细胞的总的直接或间接累积接触周期。

开展全面的生殖毒性试验还宜基于从器械材料对雄性/雌性生殖器官作用的已发表文献或从亚急性/慢性研究对生殖系统的组织病理学研究中获取的任何信息。

5 遗传毒性试验

5.1 总则

在决定进行某项遗传毒性试验之前，应考虑ISO 10993-1的要求。在考虑了4.1～4.3中给出的所有相关因素后，应对试验程序的原理进行论证并形成文件。

遗传毒性试验用于检测两类主要的遗传损伤：

——基因突变（点突变）；

——染色体损伤[结构畸变如易位、小或大缺失和插入、染色体数目畸变（非整倍体）]。

5.2 试验策略

5.2.1 总则

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进行体内试验。

细菌回复突变试验可检测出啮齿动物试验所检测到的大部分遗传毒性致癌原所产生的相关遗传毒性改变，却检测不出某些特定类别的遗传毒性物质，如卤烃类。

在细菌系统中产生潜在DNA损伤的试验材料与它们在真核细胞中的作用可能不具有相关性，因此，除非进行论证，否则应在哺乳动物细胞试验系统中进行试验。常用的几种哺乳动物细胞系统包括：测定总的染色体损伤的系统（用于染色体结构和数量异常的体外试验），主要测定基因突变的系统（HPRT突变试验），以及测定基因突变和诱裂效应的系统[小鼠淋巴瘤胸苷激酶（tk）试验，包含集落数和大小测定]。体外染色体损伤和体外小鼠淋巴瘤tk试验得到一致的结果。两个试验结果中一致被认为具有遗传毒性的化合物在细菌回复突变试验中却产生阴性结果。因此，在标准的遗传毒性试验组合中，染色体畸变试验和小鼠淋巴瘤tk试验中任何一个与细菌回复突变试验组合当前都认为是可接受的。

5.2.2 试验组合

进行遗传毒性试验时，试验组合应包括：

a) OECD 471 给出的细菌回复突变试验，经修改适用于医疗器械，如用器械浸提液进行试验，按 ISO/TR 10993-33:2015 中第 6 章，和以下任何一项；
b) OECD 473 给出的体外哺乳动物染色体损伤的细胞遗传评估试验，经修改适用于医疗器械，按 ISO/TR 10993-33:2015 中第 7 章；或
c) OECD 490 给出的体外小鼠淋巴瘤 tk 试验，包括检测小克隆（增殖缓慢）和大克隆，经修改适用于医疗器械，按 ISO/TR 10993-33:2015 中第 9 章；或
d) OECD 487 给出的体外哺乳动物细胞微核试验，用于检测染色体损伤和非整倍性，经修改适用于医疗器械，按 ISO/TR 10993-33:2015 中第 8 章。

当存在其他相关因素（如遗传毒性机理和药物代谢动力学）可能影响某一化合物遗传毒作用时，经论证后需要考虑进行体内试验。在啮齿类动物造血细胞进行的体内染色体损伤试验可包括用 OECD 475 给出的骨髓细胞分析染色体突变或 OECD 474 中给出的用骨髓细胞或外周血红细胞分析微核（按 ISO/TR 10993-33:2015 中第 10 章或第 11 章）。

适用时，应按 ISO 10993-12 的要求或参见附录 A，使用两种浸提液在啮齿类动物造血细胞中进行体内染色体损伤试验。极性介质优先采用静脉途径，非极性介质优先采用腹腔途径。

如果使用者能证实从试验样品中获取的可浸提物的量小于经充分表征在体内微核试验中能引起阳性反应的遗传毒素的量，则无需进行体内试验。

参考文献[35]中给出了顺铂（cisplatin）（CAS 号：15663-27-1）的实例，显示其引起体内微核遗传毒性的阳性反应剂量为 0.3 mg/kg。

5.2.3 后续评价

如果按 5.2.2 进行遗传毒性试验且两个体外试验的结果为阴性，则无需进行进一步的动物体内遗传毒性试验。

如果任一体外遗传毒性试验结果为阳性，宜适用下列逐步程序，另参见附录 B。

步骤 1：遗传毒性初始试验组结果的影响因素的识别，如可能：

a) 影响因素的识别（如非生理条件、试验样品与培养基间的相互作用、自氧化和细胞毒性）。
b) 代谢作用的识别（如外源性代谢系统的特性、新陈代谢的特性、异常的代谢产物）。
c) 通过化学表征对杂质的识别（即材料组分研究或分析试验）。

步骤 2：从机理方面对各识别出的因子进行证据权重（WOE）评定和要考虑的作用方式（MOA）。

a) 是直接 DNA 还是间接 DNA 反应作用方式。
b) 非整倍体和多倍体问题。是否涉及异倍性机制。

步骤 3：判定点。

确定医疗器械浸提液或关注化学物是否是一种遗传毒性物质，如果：

a) 毒理学风险评定框架内结果的解释和 WOE/MOA 分析认为对预期使用器械患者存在低/可忽略风险；或
b) 毒理学风险评定框架内结果的解释和 WOE/MOA 分析认为对预期使用器械的患者可能有潜在风险。

如果确定结果是 a），无需再进行附加试验或评价。

如果确定结果是 b），继续进行步骤 4。

步骤 4：进行风险管理。

按遗传毒性危险（源）进行风险管理或选择适宜的体外和/或体内后续试验。

步骤 5：选择和进行附加的体外和/或体内试验。

应在体外试验所识别的最适宜终点的基础上选择相应的体内试验。

通常使用的体内试验包括：

——OECD 474 给出的啮齿动物体内微核试验；

——OECD 475 给出的啮齿动物骨髓中期分析；

——OECD 488 给出的转基因基因突变试验。

应对最适宜试验系统的选择决定进行论证并形成文件。

注：最近，OECD 489 指南草案已开发一种遗传毒性试验，用于检验化学物对啮齿类动物作用的碱性单细胞凝胶电泳（彗星）试验。该试验可能为医疗器械试验提供有用信息。

应尝试证实试验样品已经到达靶器官。对于啮齿动物体内微核试验或啮齿动物骨髓中期分析试验，可使用下列方法中的一种来证明生物利用度：

——血液或血清中特定浸提化合物的定量分析；

——试验浸提液诱导骨髓细胞毒性；

——静脉途径接触（极性介质）。

如果不能证实与靶器官接触，应在另一个靶器官中进行下一个体内试验以验证无体内遗传毒性。

步骤 6：所有积累数据的再解释并确定该试验样品是否具有遗传毒性。

在某些情况下，体外试验阳性结果可能不具有相关性。宜考虑下列情况以确定所有体外试验结果的相关性。所列各项并不全面但有助于对过程判定：

a) 最初的两个体外试验中只有一个为阳性结果；

b) 在相似机理的终点的进一步体外研究不能确定阳性结果；

c) 作用机理信息表明体外试验阳性结果与体内情况不相关（如高细胞毒性、渗透压等）；

d) 具有该试验样品到达靶器官证据的体内试验表明无遗传毒性作用。

所有证据权重（WOE）分析和所有数据组的解释应连同其结论形成文件。在某些情况下，可能需要进行位点特异性或遗传终点特异性试验。多数情况下，这些试验没有国际公认的试验方案。

5.3 样品制备

除非该样品能溶于与试验系统相容的溶剂，否则应在材料或医疗器械中遗传毒性残留物浓度足以在试验系统中产生阳性反应的最大浸提能力水平的基础上选择适宜浸提溶剂，但不能有器械或试验样品的降解。应在与遗传毒性试验相容的基础上选择试验系统的浸提介质。应对终产品（包括灭菌，如适用）、器械材料、器械组件或器械的某一化学成分的溶液、悬液（如附录 A 中的方法 A）、浸提液（如附录 A 中的方法 C）或加严浸提液（如附录 A 中的方法 B）进行试验。

除非经过论证，否则器械材料宜包括所有最终配方和加工过程。通常用原材料进行试验是不合适的，因为配方和加工过程可能改变器械终产品潜在的毒性。

选择某一化学成分进行试验的理由应进行论证并形成文件。理由应包括考虑相互作用和协同作用。

如适用，试验材料宜采用两种溶剂按照 ISO 10993-12 或附录 A 的规定浸提。

任何为减少试验而只选用一种溶剂的决定，应得到论证并形成文件。

6 致癌性试验

6.1 总则

在确定进行致癌性试验之前，应考虑 ISO 10993-1 的要求。应在评价医疗器械使用中引发癌症风险的基础上，对进行试验的决定予以论证。在没有产生新的致癌试验数据的情况下，若能对风险进行充分评定或管理，则不应进行致癌性试验。

可将致癌性试验设计成在单项研究中同时能检测慢性毒性和致癌性。当在单项研究中同时评价慢性毒性和致癌性时，在研究设计阶段特别要注意确保剂量组是适宜的。这有助于防止由慢性/累积的全身毒性导致的未到期死亡或将死亡率降至最低，从而确保到研究终点（即正常寿命期）时存活动物得到数据的统计学评价水平。

注：可采用适宜的体外细胞转化系统进行致癌性预筛，如 OECD 214 给出的叙利亚仓鼠胚胎（SHE）细胞转化试验以及 Balb3T3 细胞转化试验。附录 C 给出了试验系统的说明，附录 D 中给出了细胞转化试验系统的附加信息。

6.2 评价策略

应对遗传毒性材料的致癌性试验进行科学论证。对于遗传毒性材料，多数情况可推定为是一个致癌危险(源)并对其进行风险管理。

在缺乏证据来排除非遗传毒性材料致癌性风险的情况下，应考虑进行致癌性试验的情况可能包括以下：

——降解时间超过 30 d 的材料；

——进入人体和(或)体腔累计接触时间超过 30 d 的材料。

论证后不需进行试验的情况包括：

——具有大量并充分的人体应用或接触数据的材料；

——预期引起固态致癌性的材料(按附录 E 的规定)；

——受方法学所限或试验的预示价值不高的其他情况。

为了确定某一器械是否具有大量的人体使用史，该评定宜包括该器械是否经历相似的加工过程、用于相似的患者群体、用于相似的作用部位和较短或相似的累积作用时间的评价说明。人类使用史宜形成文件，说明信息是否是从使用群体的不良事件、特殊致癌风险的监测中获取到的。

当考虑是否宜进行一项致癌性研究时，应说明该研究在评价人类风险中的作用，并应对该研究的需要性和研究设计进行论证。该论证应考虑植入致癌性研究在生物学安全性评价中所具有的不确定性，而且需要用到大量的动物。

如果按 ISO 10993-1 认为慢性毒性和致癌性都需要考虑，并确定有必要做试验时，如可行，应按 OECD 453 进行试验。

如果按 ISO 10993-1 只需要考虑开展致癌性研究，并确定需要做该试验时，应按 OECD 451 进行试验。

一种动物种属足以检验医疗器械致癌性。应按 ISO 10993-2 选择和论证动物种属并形成文件。

6.3 样品制备

当需要将致癌性试验作为生物学安全性评价的一部分时，应使用材料、明确的化学物或经表征的医疗器械浸提物进行致癌性研究。

应对能代表最终产品状态的该医疗器械进行试验。对于有其他形态的器械可能还要追加试验，如，器械产生的摩擦碎片或原位固化的材料(如骨水泥、黏合剂和聚合前混合物)。原位固化器械指南应符合 ISO 10993-12。

应对试验样品(器械材料、器械材料浸提液或明确的化学物)的选择进行论证并形成文件。

动物实验使用的最高剂量是最大耐受量或动物模型的生理限量。该剂量以所估计的人体最大接触剂量(重量和/或表面积每千克体重)的整数倍表示。

6.4 试验方法

如果考虑用浸提液试验时，致癌性试验应按 OECD 451 或 OECD 453 进行。

被评价的组织应包括 OECD 451 或 OECD 453 中列出的相关组织和植入部位组织及其邻近组织。

对器械材料浸提液或特定化学物进行研究时，应说明不考虑该材料的表面特性会致癌的理由。按附录 E 的要求，应考虑该植入研究的性质，应描述表面特性在人类风险评价中的作用并形成文件。

用植入研究评价致癌性时，植入材料的量应代表加严的人类剂量，以提供足够的安全范围。该最大剂量会受动物模型的生理限量的限制。该剂量以估计的人体最大接触剂量(单位为重量和/或表面积每千克体重)的整数倍表示。

取所估计的人体最大接触剂量(单位为重量和/或表面积每千克体重)的 100 倍安全因子，前提是该剂量宜与该模型的生理承受能力相适宜。阴性对照组通常是临床可接受的相似形状和状态的材料或已

有文献证明无致癌潜能的参照对照材料(如聚乙烯)。

适宜时,应根据 ISO 10993-6 的要求来制备适宜形状的供试材料的植入物,并考虑固态致癌的可能性,参见参考文献[33]。

示例:

供试物:聚合物

接触情况:一个典型患者将接受最大为 11 g 聚合物。

人类接触剂量:0.19 g/kg(按女性平均体重 58 kg 计)。如果器械用于儿童,则推荐的体重为 10 kg。

考虑用 100 倍的安全因子,小鼠的剂量等于 19 g/kg。这样,一只体重 25 g 的小鼠将接受 0.475 g。

聚合物可用圆盘形状的试样试验。推荐圆盘试样的直径不超过 15 mm,厚度不超过 2 mm～3 mm。但是,对于高密度材料,尺寸可相应减小以避免与样品重量相关的组织损伤。可植入多个样品以获得预期剂量。这样,在上述示例中,每只小鼠植入两个含 0.2 g 聚合物的圆盘形植入物。

被评价组织应包括 OECD 451 或 OECD 453 中列出的相关组织和植入部位组织及其邻近组织。

近年来,使用转基因动物进行致癌性试验已获得部分认可,但尚未用医疗器械进行确认。与啮齿类动物的两年致癌性试验相比,在转基因模型中进行的致癌性试验周期较短(通常 6 个月),需要动物量较少。除了周期较短之外,该研究还具有不会被固态成瘤现象干扰的优点。因该转基因模型研究仅持续 6 个月,而固态成瘤的发展需要 8 个月～9 个月时间,所以不会形成干扰因素。RasH2 转基因小鼠模型是已被用于评定医疗器械致癌性风险的主要转基因模型。

因为缺乏可获得数据,并且缺乏针对 RasH2 转基因小鼠模型的正式确认性研究,针对该模型进行的研究设计中通常包括一个阳性对照和阴性对照。

7 生殖和发育毒性试验

7.1 总则

在确定进行生殖和发育毒性试验之前,应考虑 ISO 10993-1 的要求。应在评价受试群体的生殖组织、胚胎/胎儿或婴儿接触试验材料或可沥滤物潜能的基础上,对进行试验的决定予以论证。

对生物可降解医疗器械或含可沥滤物质的医疗器械,如果在吸收、代谢、分布和排泄研究方面有充分可靠的数据证实不与生殖组织接触,或已有来自生殖和发育毒性的充分和可靠数据,就无需进行生殖毒性试验。

对医疗器械进行风险评定认为实际使用中生殖和发育毒性的风险已充分降低到可接受的毒理学水平,则无需进行生殖和发育毒性的试验。

注: 附录 F 还给出了发育毒性的替代试验(体外胚胎毒性试验)的相关信息。

7.2 试验策略

下列器械应考虑生殖和发育毒性试验:

——长期或持久接触的器械,具有可能与生殖组织、胚胎/胎儿或生殖细胞直接接触的材料、降解产物或可沥滤物;

——储能医疗器械;

通过风险评定来确定是否进行器械的生殖毒性试验时,应涉及的因素有:

——可沥滤化合物的全身接触程度(如果器械不直接接触生殖组织);

——器械的物理特性;

——该器械材料的代谢产物;

——遗传毒性结果。

当上述一个或多个因素信息不充分,且通过其他风险控制措施不能降低该风险时,需要进行试验(如缺乏生殖毒性数据的信息)。

试验应在器械终产品或试验材料上进行。

使用特定的试验材料而不使用器械终产品进行试验应进行论证，其理由应形成文件。

如需进行试验，可先进行 OECD 421，以提供可能影响生殖和(或)发育的初步信息。此类试验的阳性结果可用于最初危险(源)评定，并有助于决定是否有必要进行附加试验以及试验时间的选择。

如果认为有必要追加试验，如适宜，应按 OECD 414、OECD 415 或 OECD 416 进行试验。

按 OECD 414、OECD 415 或 OECD 416 启动一个适宜的明确证实是否有生殖毒性的试验体系是可能的。

7.3 样品制备

样品制备应按 ISO 10993-12 进行。只要可能，医疗器械都应在最终状态下进行试验。对于有其他形态的器械可能还要追加试验，如原位固化的器械或材料(如骨水泥、黏合剂和聚合前混合物)。

对于储能医疗器械，应以动物全身接触为宜。使用剂量应为人体与生殖器官接触所预期剂量的整数倍。以最大耐受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(单位为重量和/或表面积每千克体重)的整数倍表示。

体内试验应按 ISO 10993-2 进行。

7.4 试验方法

对第一代(F1)或以至第二代(F2)影响的评定应按 OECD 414、OECD 415 或 OECD 416 和 OECD 421 进行。由于 OECD 导则未预期用于医疗器械，因此应考虑作下列修改：

——剂量(对储能医疗器械的情况)；

——应用途径(植入、胃肠外、其他)；

——浸提介质；

——接触时间(可能时，器官形成期间血液中受试物水平升高)。

注：可以根据预期的人体使用和材料的特性进行分娩前/后的研究。

如果其他试验表明对雄性生殖系统有潜在影响时，则应进行相应的雄性生殖毒性试验。

最近，已经开发出体外生殖试验系统，这些试验系统可用于生殖和发育毒性的预筛试验。

8 试验报告

试验报告应至少包括下列相关信息，如相关：

a) 材料和(或)医疗器械的描述（如：化学成分、加工过程、状态调节和表面处理)，包括其预期用途；

b) 试验方法、试验条件、试验材料、试验剂量和试验步骤的描述和说明/论证；

c) 分析方法，包括定量限值的描述；

d) 符合适宜的现行/经确认的良好实验室/质量规范的声明，如实验室质量管理规范(GLP)或 ISO/IEC 17025，如适用；

e) 试验结果，包括概述；

f) 统计学方法；

g) 结果解释和讨论；

h) 试验报告中应包括相关 OECD 导则或附录 C 和附录 D 以及 ISO/TR 10993-33:2015 中规定的详细信息；

i) 实验室的名称和认证；

j) 试验日期；

k) 负责人的姓名和签字。

附 录 A
（资料性附录）
遗传毒性试验中选择适宜样品制备程序指南

A.1 总则

本附录为医疗器械遗传毒性试验选择某一适宜的样品制备程序给出指南。在方法选择中，使用者宜考虑该医疗器械材料的理化特性以及该医疗器械的制造过程。例如，医疗器械中的许多聚合物，除了含有相对惰性的高分子量聚合物以外，还含有其他组分如残留单体、低聚物、催化剂、加工助剂等。它们的含量随着不同的原材料来源，加工过程和添加剂的预期功能而有所不同。再有，像器械的热封、焊接或灭菌这类加工过程，也可能产生新的化学物。所有这些物质可能从器械迁移至人体并宜对其进行风险评定。

可从文献资料和/或制造商或供应商处获得生物学风险分析相关的信息。

如果可以获得最终器械或经过相同生产过程的样品(fascimile)的定性和定量的充分的表征信息，包括材料和该器械制造中使用的加工助剂，则不需要进行试验。

如果在评价中可以获得足够的信息，使用者宜在其分析中回答以下问题：

——该最终器械经过一个等同的制造过程(包括灭菌，如适用)吗？

——该器械含有相同的添加剂和污染物(如加工助剂、游离单体、催化剂)吗？

为了按 ISO 14971 进行风险评价，风险分析程序宜包含以下三个步骤：

——材料/器械表征；

——危险(源)识别；

——风险估计。

然而，如果缺少某些必要的信息，宜进行试验。包括样品制备程序在内的生物学试验方法宜设计成适合于识别生物学危险(源)和估计它们的风险。

选择适宜的样品制备方法对从遗传毒性试验中获取相应的结果至关重要。不适宜的样品制备方法可能会导致低估遗传毒性的风险。例如，用水对聚合物的浸提曾被认为可以模拟聚合物向血液中原位迁移可沥滤物。然而，Tsuji 等[76]的研究表明，当用水作为浸提溶剂时，无法浸提出聚氯乙烯血液循环管路中的邻苯二甲酸二(2-乙基己基)酯(DEHP)。他们证实了可从人血浆中浸提出大量的 DEHP，并且用人血浆浸提出的 DEHP 溶出物的百分比与用 40%乙醇浸提的结果相似。基于该研究，Oba 等[77]用 40%乙醇浸提得到的浸提液进行家兔输注试验，成功再现了在使用某一品牌的醋酸盐型透析器进行透析的患者中发生的眼损伤。

A.2 器械材料

A.2.1 低分子量化学物(LMWC)

LMWC，医疗器械中所含的非聚物，可透过细胞膜与 DNA、基因或染色体发生反应，因此，它们能够导致遗传毒性反应(如，氰基丙烯酸酯黏合剂)，参见 A.2.2.1。

A.2.2 聚合物(包括天然聚合物)

聚合物是由含一连串的一种或多种单体单元为特征的分子组成的一个至少含有 3 个单体的单分子量大分子化学物。这些单体以共价方式结合至少一个其他单体或其他反应物并且组成少于一个相同分子量的单分子量大分子。这些分子必须分布在一定分子量范围内，而分子量的不同主要是由单体数量

的不同造成。

常见的共聚物有:不可降解的合成聚合物(如聚乙烯、聚甲基丙烯酸甲酯、硅酮);天然形成的聚合物(如纤维素、藻酸盐、凝胶、胶原);以及生物可降解聚合物[如聚乳酸(PLLA)、聚乙二醇酸]。

A.2.2.1 聚合物中含有的 LMWC

聚合材料中通常含有少量的 LMWC,如添加剂、催化剂、加工助剂和放射性产品。这些 LMWC 可能具有潜在的遗传毒性。在侵入性接触的情况下,LMWC 可从聚合物中迁移出并进入患者体内。因此,宜评价聚合物中 LMWC 的遗传毒性风险。

聚合物器械向体液中释放 LMWC 被认为是一种与 LMWC 从食品包装向食品中迁移相似的现象。在食品包装中,迁移率用以下方式表示:

——聚合物中 LMWC 总含量的函数;

——聚合物中 LMWC 的扩散系数;和

——聚合物与食品间 LMWC 的分配平衡常数(partition equilibrium constant),参见参考文献[82]。

因此,食品包装中的假设和方程式可用于医疗器械中 LMWCs 的风险评价。

A.2.2.2 低聚物

低聚物只是由少量的单体单元(二聚物、三聚物、四聚物)组成聚合物分子。低聚物可存在于聚合物中并从聚合物中迁移出来。由于潜在的遗传毒性,宜考虑其结构中含有功能性化学反应基团的低聚物带来的健康问题。1993 年,第 3 次 OECD 聚合物专家会议[78]得出结论,在选用聚合物时,宜考虑下列参数对患者健康的作用:

——数均分子量;

——低分子量含量;

——反应性功能基团的存在;和

——作为聚合物结构中一部分的生物可利用金属的存在。

被认定是反应性功能基团的有:酸性卤化物、酸酐、乙醛、半缩醛、羟甲基酰胺、-胺或尿素、烷氧基矽烷(>C2)、烯丙基、共轭烯烃、氰酸盐、环氧化物、亚胺、未取代邻位或对位的酚式羟基、丙烯酯酸和异丁烯酸甲酯、氮杂环丙烷、碳化二亚胺、卤代硅烷、水合硅烷、肼、异氰酸酯、异硫氰酸盐、α 内酯或 β 内酯、甲氧基或乙氧基硅烷、乙烯砜或类似化合物,参见参考文献[79]。

A.2.2.3 生物可降解聚合物

生物可降解聚合物是被设计或合理地预期充分降解、分解或解聚的聚合物,包括那些在制造和使用后发生显著分解的聚合物,即使这个过程实际上并不是使用该材料的主要意图。对于生物可降解聚合物,聚合物中的 LMWC 会全部释放到患者体内。多数生物可降解聚合物与聚酯相似,通常不具有 OECD 报告中所定义的反应性功能性基团。宜评价生物可降解聚合物中含有的或加入的 LMWC 的遗传毒性风险。

A.2.3 无机材料:金属、合金和陶瓷中的摩擦碎片

应考虑无机材料(如不锈钢、钛合金、羟基磷灰石、磷酸三钙、氧化铝和氧化锆)中释放的金属离子的量和遗传毒性带来的健康问题。例如,已经在植入金属髋关节植入物的患者的周围淋巴细胞中发现体内遗传毒性反应。很多金属离子在人体中发挥其重要的调节作用并且这些作用依赖于它们的化学特性和价态。金属离子与体液(如血液、淋巴液和尿液)中的蛋白结合并分配于不同的生物分布区域。金属离子被内化进入细胞并可与细胞核结合,并局部性、系统性或两者同时改变细胞信号。因此,宜尽可能依据文献资料对金属离子的遗传毒性概况进行评价和评定。

A.3 样品制备方法

A.3.1 总则

理想的样品制备设计方案是将从整个器械制得的可浸提物的总量应用于试验系统中来估计某一器械的遗传毒性风险。但是,这种方法对于较大型器械不可行。对于较大器械,样品部件制备的程序对试验样品的一部分进行浸提并将其应用于试验系统。

对预期用于人体的任何材料或器械的样品制备程序的选择,需要一个考虑到材料或器械的化学成分和理化特性的结构化方法。样品制备宜参照图 A.1 中的决定树。该图表述了对某一器械材料选择浸提方法的决定过程(方法 A、方法 B 或方法 C),除非该医疗器械或材料应按 A.4 中所描述的特殊样品制备程序进行评价。

所使用的溶剂或浸提溶剂不宜与该试验样品有可疑的化学反应。

方法 A 需要将试验样品直接应用于试验系统。当试验样品能溶解于或悬浮于与试验系统相容的某一适宜溶剂中时,采用方法 A。

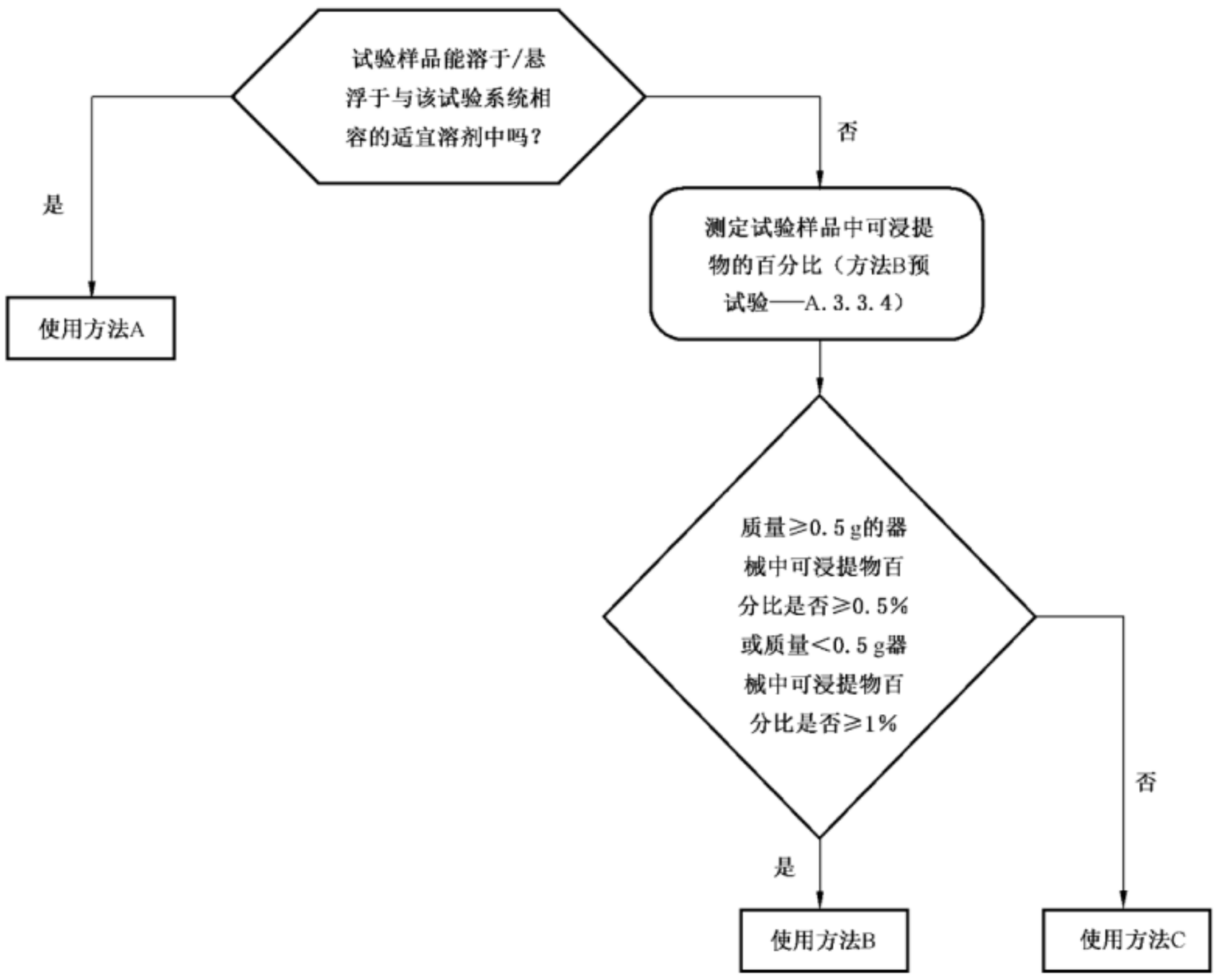

图 A.1 选择某一样品制备步骤的结构化方法

当试验样品既不溶于也不能悬浮于极性或非极性溶剂时,依据组成该器械的材料的物理特征从方法 B 和方法 C 选取浸提方法。方法 B 或方法 C 的选择依据该试验样品中可溶出物的百分比。

宜报告每一溶剂的可浸提物的百分比(按残留物的量占器械总重量的百分比报告,另参见 A.3.3.4。常用的浸提溶剂为甲醇和丙酮。

甲醇更适宜于浸提水溶性物质而丙酮则更适宜于浸提脂溶性物质。分别蒸发甲醇和丙酮浸提液至干燥来测定试验系统每一溶剂中获取的可浸提物的百分比。宜报告每一溶剂中可浸提物的百分比。

如有适宜的理由，可在材料预试验中使用其他溶剂。如使用挥发性溶剂，该溶剂可能会使试验材料降解或不能有效浸提出试验材料中的残留物。

表 A.1 有助于选择适宜的医疗器械浸提溶剂。该表列出了常用的浸提溶剂和它们的辛醇-水分配系数，$\log K_{ow}$。一种溶剂的 $\log K_{ow}$ 负值越高，则与辛醇相比越容易溶解于水中。一种溶剂的 $\log K_{ow}$ 正值越高，则与水相比越容易溶解于辛醇中。溶剂的选择宜进行论证。

表 A.1 常用浸提溶剂

溶剂	$\log K_{ow}$
二甲基甲酰胺	−1.01
甲醇	−0.74
乙醇	−0.30
丙酮/2-丙酮	−0.24
二氯甲烷[a]	+1.25
氯仿[a]	+1.97
正己烷[a]	+3.90
[a] 这些化学物可作为对照来说明安全性。	

A.3.2 方法 A

将试验样品溶解于或悬浮(或部分溶解)于溶剂中。如果供试品溶于水或盐水这类的水性溶剂中，则体外哺乳动物试验系统中，试验样品制备液的终体积不宜超过试验系统相容溶液的 10%。体外哺乳动物遗传毒性试验的最大试验浓度是 5 mg/mL。在细菌回复突变试验中，每个琼脂平板宜使用 100 μL 试验样品制备液。细菌回复突变试验适用的最大浓度为 5 mg/板。

宜根据遗传毒性试验的内容选择试验剂量。有些情况下对剂量范围进行预试验可能有助于选择适宜的剂量。如果预期是非毒性的，选择单次最大剂量水平也是合适的。各分析中的剂量评价指导应符合 ISO/TR 10993-33:2015。

对于体内试验，通常可以一次注射给予的试验样品制备液的最大体积是，小鼠为 20 mL/kg 体重，大鼠为 10 mL/kg 体重。对于非毒性试验样品制备液，最大剂量水平为 2 000 mg/kg 体重。对于毒性试验样品制备液，宜在体内主研究之前进行一项剂量范围探索研究，以确定试验样品制备液的毒性并为主研究设定剂量水平。

如适用，考虑到动物福利的原因，可利用急性毒性研究的数据。

使用者可参考 ISO/TR 10993-33:2015 中的详细信息。

可使用参考文献[107]中提供的设定最高剂量溶液的原则。

A.3.3 方法 B

A.3.3.1 总则

为了选择方法 B 或方法 C，宜参见 A.3.3.2 试验样品制备和参见 A.3.3.3 浸提程序进行预试验。

如果预试验中获得的浸提物的百分比满足下列准则，则选择方法 B：

a) 对于质量<0.5 g 的器械，如接触镜或人工晶状体，如果试验样品中可浸提物的百分比≥1%，则宜使用方法 B。

b) 对于质量≥0.5 g 的器械，如果试验样品中可浸提物的百分比≥0.5%，则应使用方法 B。

如可浸提物不满足上述准则，宜使用方法 C。

A.3.3.2 试验样品制备

将试验样品浸入一种可从试验样品中浸提出残留物但不会溶解试验样品的可挥发的有机浸提介质中。如果试验样品的外观或重量确认为有部分降解时，使用方法 C。选择两种或以上的溶剂进行试验以确定哪种溶剂可从试验样品中浸提出最高比例的浸提物质，参见 A.3.3.3 和 A.3.3.4。常用的浸提溶剂有甲醇和丙酮。将经浸提、蒸发的试验样品残留物溶解于或悬浮于某一与遗传毒性试验系统相容的溶剂中。染色体畸变试验或小鼠淋巴瘤试验中培养液中有机或水性溶剂的最终体积不宜超过 1%(有机)和 10%(水性)。在细菌回复突变试验中，每个琼脂平板中宜使用 100 μL 的残留溶液或悬液。体外染色体畸变试验或体外小鼠淋巴瘤试验中最大的试验浓度为 5 mg/mL。细菌回复突变试验中最大浓度为 5 mg/板。

A.3.3.3 中给出了样品的浸提过程，参见参考文献[86]。

对于体内试验，将经浸提和蒸发的试验样品残留物溶解于或悬浮于与试验系统相容的介质中。最高剂量和给予途径的选择与方法 A 中相同。

可使用参考文献[107]中提供的设定最高剂量溶液的原则。

A.3.3.3 步骤

步骤如下：

——将适宜量的试验样品切成小块并将其放置于装有浸提介质的玻璃容器中。宜使用 1 g/10 mL 的比例或足以浸没试验样品的浸提介质体积。若试验样品无法切割，则使用充足体积的浸提介质来覆盖样品，优先使用 1 g/10 mL 的比例。

注 1：ISO 10993-12 中包含了吸水性材料的浸提。

——在室温和持续搅动条件下浸提该试验样品(24±2)h。

——浸提后，通过低吸附性和化学惰性的滤器来过滤浸提液去除该试验样品。

——将浸提液倒入一个已知恒重质量(m_1)的梨形烧瓶中，用减压浓缩仪在≤30 ℃的条件下使浸提溶液中浸提溶剂蒸发至干燥或至恒重。确定蒸发后烧瓶的质量(m_2)。

——计算可浸提物的百分比。

——该残留物部分可用以核查与试验系统相容溶剂的溶解性/一致性。

——无论是浸提液还是试验给予溶液，都不可以对其加热，以避免残留物中发生化学改变或挥发性化合物的损失。

注 2：也可考虑选择索式(Soxhlet)极限提取法。

——浸提后蒸发浸提液不适用于器械中可疑残留物为高挥发性的情况(如环氧乙烷、低分子量丙烯酸单体)。

——按方法 B 进行样品制备时，如果两种浸提液均满足方法 B 的准则，则从试验样品得到的两种浸提液宜单独使用。如只有一种浸提液满足方法 B 的准则，只能使用这一种浸提液进行遗传毒性试验。另一种浸提液不能使用。

——在试验系统取得最大化试验浓度的基础上，用一种溶剂溶解或悬浮该可浸提残留物。该溶剂能使用如方法 B 的预试验中获得该残留物来证实。24 h 内使用该溶液。

A.3.3.4 结果的表述

通过梨形烧瓶质量改变，用式(A.1)来计算梨形烧瓶中可浸提残留物的质量(W_R)。

$$W_R = m_2 - m_1 \qquad \cdots\cdots(A.1)$$

式中：

m_1——梨形烧瓶的质量；

m_2——可浸提液蒸发后梨形烧瓶的质量。

按式(A.2)用可浸提残留物的质量比试验样品的质量乘以100计算可浸提物的百分比。

$$\%_e = \frac{W_R}{m_3} \times 100 \qquad \cdots\cdots(A.2)$$

式中：

$\%_e$ ——可浸提物的百分比；

m_3 ——浸提前试验样品的质量。

记录并报告每一溶剂中可浸提物的百分比。

该研究报告宜包含浸提溶剂的选择原则以及每种受试溶剂的残留物百分比。

A.3.4 方法C

A.3.4.1 总则

方法C与ISO 10993-12中所述的模拟使用浸提法相似。

用与该试验系统相容的溶剂/介质对试验样品进行浸提。将试验样品制备液应用于该试验系统。浸提液在24 h内使用。

A.3.4.2 步骤

A.3.4.2.1 对于细菌回复突变试验，将试验样品切成小块，如可能，按ISO 10993-12进行浸提。

A.3.4.2.2 对于体外哺乳动物细胞试验，将试验样品切成小片，如可能，按ISO 10993-12进行浸提。

A.3.4.2.3 如使用不含血清的培养基作为极性溶剂浸提，则在浸提原液中加入血清后再将其接触细胞。含血清的细胞培养液中的试验浸提液(作为非极性溶剂)被作为浸提原液试验。如果用盐水作为极性溶剂浸提，宜使用含血清的细胞培养液将其稀释成至10%再接触细胞。如果用二甲基亚砜(DMSO)或乙醇浸提液宜使用含血清的细胞培养基将其稀释成至1%。对于有细胞毒性的浸提液，选择适宜试验浸提液剂量时宜考虑试验中可接受的细胞毒性限值。

注：如果使用含或不含血清细胞培养基进行浸提时，(37±1)℃条件下浸提(48±2)h也是可以接受的。

A.3.4.2.4 对于体内试验，将试验样品切成小片，如可能，按本部分规定进行浸提。

A.3.4.2.5 按所使用的溶剂，将试验浸提液通过静脉(盐水)或腹腔(疏水性)注射给试验动物。小鼠注射体积不宜超过20 mL/kg体重，大鼠不宜超过10 mL/kg体重。

A.4 特殊样品制备程序的附加指南

A.4.1 生物可降解聚合物

对于用生物可降解聚合物制造的器械，出于释放给患者的LMWC的总量的考虑，可使用改进后的方法B来制备试验材料。用适合于溶解和再沉淀的溶剂过滤该溶液来去除沉淀物。报告过滤后滤纸上的任何沉淀物。将滤过液中的溶剂蒸发(如，可使用旋转蒸发器)。记录所产生的残留物的量。

用与试验系统相容的溶剂/介质来溶解或悬浮残留物并应用于该试验系统。

A.4.2 无机材料：金属、合金和陶瓷中的摩擦碎片

在评定像髋关节假体这样的无机材料制成的器械的遗传毒性时，主要考虑从摩擦碎片和/或在临床接触过程中因腐蚀而释放的金属离子以及它们的释放量的遗传毒性潜能。因为本部分中的试验被设计成测试最终器械的浸提物(溶液中)的遗传毒性，而不是微粒的遗传毒性，因此还需要用其他方法来评定摩擦碎片或微粒的遗传毒性潜能。

A.4.3 低分子量化学物(LMWC)

当试验样品由单个或多个LMWC组成时，可用它和一种与试验系统相容的介质的溶解液/悬浮液来评价其遗传毒性风险。方法A适用。

附 录 B
（资料性附录）
后续评价流程图

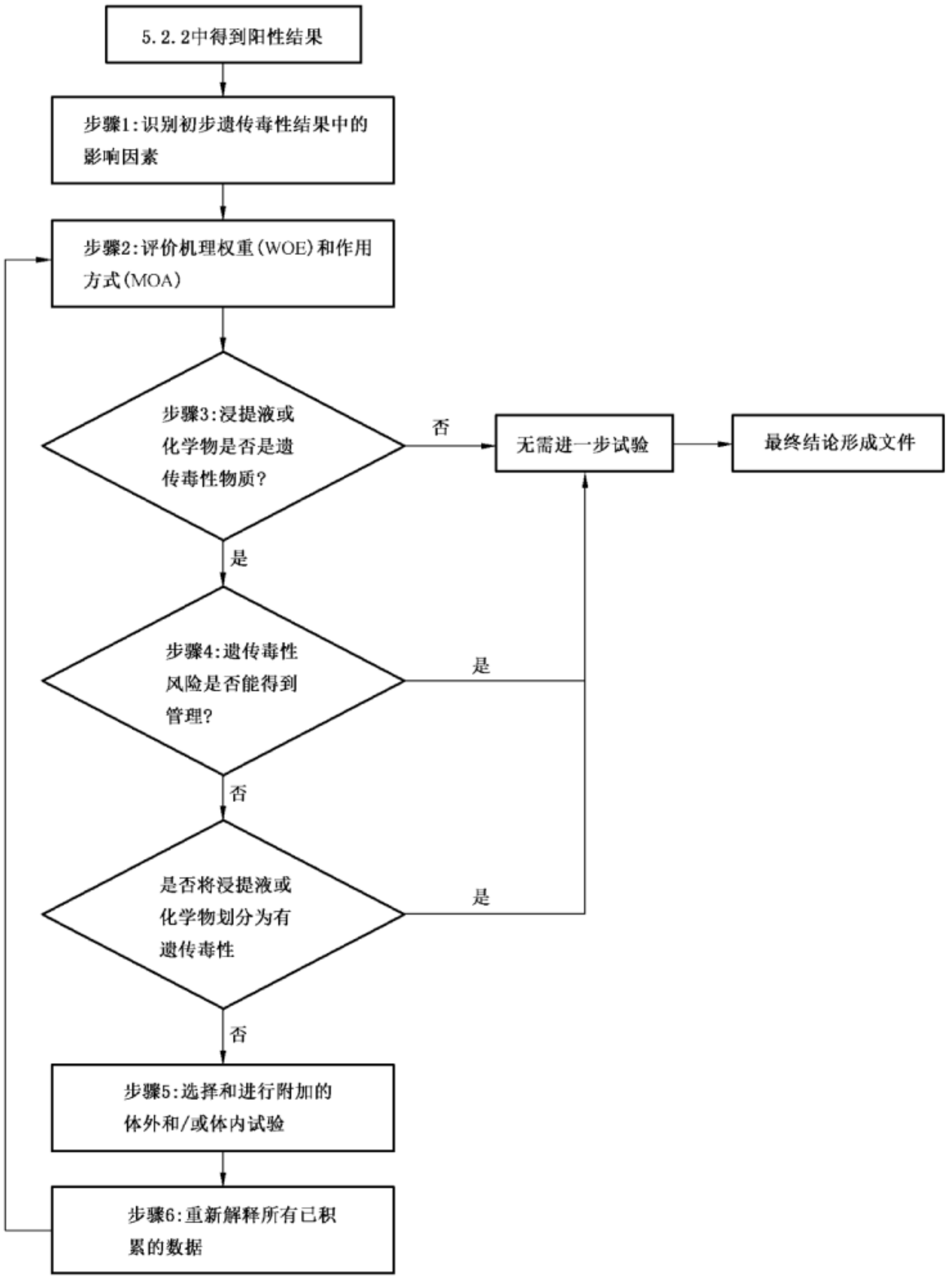

图 B.1 后续评价流程图

附 录 C
（资料性附录）
试验系统的说明

C.1 遗传毒性试验

遗传毒性试验的主要作用是采用试验细胞或生物体来研究生殖细胞和体细胞基因改变的风险。科学数据通常支持体细胞内 DNA 损伤是引发癌症的关键事件的假说。因此，有些 DNA 损伤试验有助于推断（受试物的）致癌活性的调查。

在经典的毒理学试验中，一项试验设计中可观察到多个相关参数或多个终点，但在遗传毒理学试验中却难以做到。因遗传终点的多样性，通常不可能在单个试验系统中检测出多于一个的终点。

在试验导则中列出了大约 15 种不同的试验，从中选择最适合、满足特定要求的试验取决于诸多因素，这些因素包括所需检测的遗传变化的试验类型或试验系统的代谢能力。

必须要强调的是，尽管在选择最佳试验组合方面曾做过一些尝试，但目前尚无为一特定目的选择最佳试验组合的国际协议。值得注意的是，目前正在使用或发展中的其他一些致突变性试验尽管没有采用 OECD 导则，但可能也还是有用的。宜关注药品 ICH/S2B 协议。

在经过各种修复过程的影响后，与 DNA 相互作用的化学物产生的损伤可导致基因水平上的遗传变异（如基因或点突变、小缺失、有丝分裂重组或显微镜下可见的各种染色体改变），目前已有针对每种变异类型的试验方法。

当然，现在的各短期试验还不能模拟致癌过程中的各个阶段，所以通常只用于测定起始阶段所发生的事件，即诱发突变或诱裂性染色体损伤的能力。因此这些短期试验的主要价值在于在特定的接触条件下，在以遗传毒性机理致癌为主或诱发癌症过程的初始阶段中识别致癌物质的能力。显而易见，用相对简单的短期试验（尽管这些试验提供了有用的定量信息）去解释致癌活性的复杂致癌过程时，需持谨慎态度。

由于没有单个试验能以可接受的准确和重现性的水平检测出哺乳动物的诱变剂和致癌原，所以通常科学的做法是采用一组试验。通过测定基因突变和染色体损伤的试验可得出某种物质的致突变性的最初信息，因为研究这些终点需分别进行，所以需进行一组试验。

如可获得表明可沥滤物在特定器官位点的吸收、分布、代谢和排泄（ADME）的其他相关信息，宜考虑体内遗传毒性试验。选择进行体内试验将受到可沥滤物累积位点的影响。很多情况下，啮齿类动物血细胞染色体损伤的体内试验是合适的。有些情况下，位点特异性或遗传终点特异性试验是可以说明的。多数情况下，这些试验没有国际认可的方案。对于大多数考虑需要进行遗传毒性试验的医疗器械和/或材料，一组标准的体外试验足以得出该试验样品遗传毒性潜能的证据。

C.2 致癌试验

长期致癌性研究的目的是在试验动物寿命周期的主要阶段内，通过一适当途径接触不同剂量试验物质，在接触期间或接触之后观察试验动物肿瘤病变的发展。按附录 E 的要求，这种试验需要有精心策划并形成文件的实验设计、高质量的病理学和无偏倚的统计学分析。

C.3 生殖和发育毒性试验

生殖毒性试验包括生殖、生育力和胚胎-胎儿发育几个方面。男性和女性的生育能力可能受到影响，其影响范围可从生殖能力轻微降低至不育。对发育的胚胎或胎儿的毒性作用会影响后代的健康。

致畸性是由于物质对胚胎和胎儿发育产生不良作用引起的。生殖毒性对人类健康有十分重要的影响。试验技术的不断发展使包括生殖毒理学所有方面在内的组合试验的概念逐步形成。

附 录 D
（资料性附录）
细胞转化试验系统

啮齿类动物体内模型被用于化学对人类致癌性风险的实验性研究。然而，啮齿类致癌试验是昂贵并且耗时的。已开发出一些基于动物试验方法的体外替代方法。这些方法中，能够模拟体内多阶段致癌性的细胞转化试验已被推荐用于预测化学物质的致癌潜能。

与体内试验相比，体外细胞转化试验是快速、经济并能提供一种初筛致癌潜能的方法。细胞转化已被定义为诱导有致癌特性的培养细胞产生特定的表型变异。通过和哺乳细胞的接触，致癌物可以诱导细胞表型的改变。已经获得恶变细胞特性的转化后细胞有能力在易感动物中诱发肿瘤。体外转化细胞表现出与肿瘤相关的形态变化。这种细胞形态学的转化包括了所培养的细胞在细胞行为和生长控制方面发生的变化，比如细胞表型的改变，无序的克隆生长模式以及不依赖于贴壁生长。

叙利亚鼠胚胎(SHE)转化试验已被描述成对啮齿类致癌原最具预测性的短期试验。Schectman[34]描述了随着时间的推移，啮齿类细胞转化试验方法学已变得使 SHE 细胞试验的结果比以前的方法更具重复性。与遗传毒性试验相比，细胞转化试验还有一个特别的优点，那就是它还能检测出一些非遗传毒性致癌原。但是，这种细胞转化试验技术操作难度大并且机理不完全明了。

还有，Balb/c3T3 细胞或 SHE 细胞中的两阶段细胞转化试验好像无论对诱导细胞转化的化合物检测，还是对肿瘤启动剂的检测都有应用前景。从点突变、染色体损伤、非整倍体和其他与细胞增殖相关的作用可引起细胞转化形态学改变。但是，由于非遗传毒性致癌原的作用机理广泛，特别是有些作用是组织特异性的，所以不太可能将这一试验和一项用于检测非整倍体剂的试验组合成能充分检测所有类型的非遗传毒性致癌原。因此，为了增加体外检测非遗传毒性致癌原的范围，有必要开发一组包括非整倍体剂的主要作用终点检测方法在内的试验。

参考文献[13]和参考文献[14]中给出了体外细胞转化试验指南和评审。

附 录 E
（规范性附录）
植入研究用于致癌性研究的考虑

E.1 异物致癌性

因植入物导致的肿瘤已在大鼠试验中得到充分的认知，这一现象被称作“异物致癌性”或“固态致癌性”，该现象概述如下。

肿瘤在植入物周围或附近的位置以一定的频率生长，通常受以下几个因素的影响：

——植入物的大小（大的植入物通常会比小的植入物产生更大的肉瘤）；

——植入物的形状；

——植入物的光滑度（表面粗糙的植入物致癌性低于表面光滑的植入物）；

——表面的连续性（植入物上的洞或孔越大，肿瘤的发生率越低）；

——对某些材料而言，植入物的厚度（植入物越厚产生的肉瘤就越多）；

——植入物在组织内的时间长度。

多半能产生肿瘤的小的膜状或片状材料，当其以粉末状、线状或多孔状材料植入时，几乎很少或无肿瘤产生[37,38]。

植入后 8 个月～9 个月开始检测到这种成瘤现象。这段潜伏期后，成瘤概率持续增加。

另一方面，许多报告指出：当使用相同的动物试验方案时，相似形状和大小的不同材料间肿瘤的发生率不同。

IARC 专题文章中给出了有关原理方面的概述[36,37,38]。

E.2 动物福利考虑

植入致癌性研究需要在大量试验动物和对照（假手术）的动物上进行侵入性外科手术。

附 录 F
（资料性附录）
体外胚胎毒性试验

在发育毒性研究领域，有许多动物试验的替代试验。30 年来，已经开发出涵盖细胞、组织和器官培养到整个胚胎培养的一整套体外试验。根据 ECVAM 工作组对生殖毒性的推荐[87]，ECVAM 发起和资助了三种体外胚胎毒性试验的确认研究。其中两项试验是从妊娠的实验动物中获取胚胎组织，即在小鼠微基质（MM）试验中使用获取的初始胚胎细胞，参见参考文献[88]，或在大鼠的全胚胎培养（WEC）试验中使用胚胎，参见参考文献[89]，[90]，[91]，[92]。相反，在胚胎干细胞试验中，参见参考文献[92][93][94][95]，则使用了永生化的小鼠胚胎干细胞（EST）。该确认研究的主要目的是评定这三种体外试验在区分非胚胎毒性、弱胚胎毒性和强胚胎毒性化学物中的能力。这三种体外胚胎试验都证明了适用于检测多种不同毒性潜能的化学物[96]。ECVAM 确认研究中特定阶段（definitive phase）的设盲试验中获得的结果在实验室内和实验室间都为可重复的。根据管理团队在正式开展确认研究前所确定的性能准则（表 F.1），EST 试验和 WEC 试验（使用一种预测模型[Prediction model（PM）]）的胚胎毒性潜能的体外数据和体内数据间的一致性为良好（Good）。MM 试验和另一个 WEC 试验（使用另一种 PM）的体外数据和体内数据间的一致性为满意（sufficient），参见参考文献[96]。表 F.2 中给出了该确认研究中基于使用的 14 种化学物体外分类和体内分类的对比汇总。ECVAM 确认性研究结果的总结报告和另外一份针对该确认研究中三个体外胚胎毒性试验的试验化学物的选择和各试验的生物学统计性能的报告已经出版[96-100]。

ECVAM 科学咨询委员会（ESAC）根据研究结果得出结论，该三种体外胚胎毒性试验已经充分确认并可用于药物和其他化学物胚胎毒性潜能的评定[101]。另外，ESAC 建议成立一个工作组，工作目标是为这三个科学有效的试验方法用于生殖毒性试验时制定一个指南性文件。ECVAM 和 ZEBET（动物试验的替代评价和文件化中心）因此成立了第二个胚胎毒性工作组，以进一步评价这三种体外胚胎毒性试验的实际应用情况。该工作组的评价结果已经发表[102]。

表 F.1 研究管理团队确定的评价试验性能的准则

准则	性能
偶发	33%
满意	≥65%
良好	≥75%
优秀	≥85%

表 F.2 分类结果的汇总（所有数据[88]）

分类	EST	MM	WEC	
			PM1	PM2
预测性（非胚胎毒性）	72%	57%	56%	70%
预测性（弱胚胎毒性）	70%	71%	75%	76%
预测性（强胚胎毒性）	100%	100%	79%	100%
精密度（非胚胎毒性）	70%	80%	70%	80%
精密度（弱胚胎毒性）	83%	60%	45%	65%
精密度（强胚胎毒性）	81%	69%	94%	100%
准确度	78%	70%	68%	80%

参 考 文 献

[1] OECD 474 Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test

[2] OECD 475 Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test

[3] OECD 478 Genetic Toxicology—Rodent Dominant Lethal Test

[4] OECD 479 Genetic Toxicology—In vitro Sister Chromatid Exchange Assay in Mammalian Cells

[5] OECD 480 Genetic Toxicology—Saccharomyces cerevisiae—Gene Mutation Assay

[6] OECD 481 Genetic Toxicology—Saccharomyces cerevisiae—Miotic Recombination Assay

[7] OECD 482 Genetic Toxicology—DNA Damage and Repair, Unscheduled DNA Synthesis in Mammalian Cells In vitro

[8] OECD 483 Mammalian Spermatogonial Chromosome Aberration Test

[9] OECD 484 Genetic Toxicology—Mouse Spot Test

[10] OECD 485 Genetic Toxicology—Mouse Heritable Translocation Assay

[11] OECD 486 Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells In vivo

[12] OECD 488 Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays

[13] Official Journal of the European Communities, L 133/73, May 1988, concerning in vitro cell transformation tests.

Bibliography for transgenic animals

[14] Gorelick N.J. Overview of mutation assays in transgenic mice for routine testing. Environ. Mol. Mutagen. 1995, 25 pp. 218-230.

[15] Provost G.S., Rogers B .J., D ycaico M.J., C arr G.Evaluation of the transgenic Lambda/LacI mouse model as a short-term predictor of heritable risk. Mutat. Res. 1997, 388 pp. 129-136.

[16] Krishna G., Urda G., Theiss J. Principles and practice of integrating genotoxicity evaluation into routine toxicology studies: a pharmaceutical industry perspective. Environ. Mol. Mutagen. 1998,32 pp. 115-120.

[17] MacGregor J.T. Transgenic animal models for mutagenesis studies: role in mutagenesis research and regulatory testing. Environ. Mol. Mutagen. 1998, 32 pp. 106-109.

[18] Kohler S.W., Provost G .S., K retz P.L., Dycaico M.I., Sorge J.A., Short J.M. D evelopment of a short-term in vitro mutagenesis assay: The effect of methylation on the recovery of a lambda phage shuttle vector from transgenic mice. Nucleic Acids Res. 1990, 18 pp. 3007-3013.

[19] Short, JM., Kohler, SW. and provost, GS. The use of lambda phage shuttle vectors in transgenic mice for development of a short term mutagenicity assay. In: Mutation and the environment.Wiley-Liss, New York, 1990, pp. 355-67.

Bibliography for cell transformation assays

[20] Leboeuf R.A., Kerckaert K.A., Aadema M.J., Isfort R.J. Use of the Syrian hamster embryo and BALB/c 3T3 cell transformation for assessing the carcinogenic potential of chemicals. IARC Sci.Publ. 1999, 146pp. 409-425. Available at: http: //apps. who. int/bookorders/anglais/ detart1. jsp?sesslan=1&codlan=1&codcol=73&codcch=146.

[21] Leboeuf R.A., Kerckaert K.A., Aadema M.J., Gibson D.P., Brauninger R., Isfort R.J. The pH 6.7 hamster embryo cell transformation assay for asessing the carcinogenic potential of chemicals. Mutat. Res. 1996, 356 pp. 65-84.

[22] Aardema M .J., Isfort R .J., T hompson E.D., Leboeuf R .A. T he low pH Syrian ham-

ster embryo (SHE) cell transformation assay: a revitalized role in carcinogenic prediction. Mutat. Res. 1996, 356 pp. 5-9.

[23] Isfort R .J., & L eboeuf R.A. The Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation system: a biologically relevant in vitro model - with carcinogen predicting capabilities - of in vivo multistage neoplastic transformation. Crit. Rev. Oncog. 1995, 6 pp. 251-260.

[24] Advances in Modern Environment Toxicology, Vol.1. Mammalian Cell Transformation by Chemical Carcinogens. N. Mishra, V. Dunkel, and M. Mehlman (eds). Senate Press: Princeton Junction (New Jersey, 08550), 1981.

[25] Transformation Assays of Established Cell Lines. Mechanisms and Application. T. Kakunaga and H. Yamasaki (eds). Proceedings of a Workshop Organized by IARC in Collaboration with the US National Cancer Institute and the US Environmental Protection Agency, Lyon 15-17 Feb. 1984.IARC Scientific Publication No. 67.

[26] Barrett J .C., O hshimura M., Tanaka N., Tsutsui T. Genetic and Epigenetic Mechanisms of Presumed Nongenotoxic Carcinogens. In: Banbury Report 25. Nongenotoxic Mechanisms in Carcinogenesis, 1987, pp. 311-24.

[27] Oshimura M., Hesterberg T. W., Tsutsui T., Barrett J. C. Correlation of Asbestos-induced Cytogenetic Effects with Cell Transformation of Syrian Hamster Embryo Cells in Culture. Cancer Res. 1984 Nov., 44 pp. 5017-5022.

[28] Barrett J.C., Oshimura M., Tanaka N., Tsutsui T. Role of Aneuploidy in Early and Late Stages of Neoplastic Progression of Syrian Hamster Embryo Cells in Culture. In: Aneuploidy, (Dellargo W.L., Voytek P.E., Hollaender A. eds.). Plenum Publishing, 1985.

[29] Fitzgerald D .J., & Yamasaki H. Tumor promotion: Models and assay systems. Teratogenesis Carcinog. Mutage. 1990, 10 (2) pp. 89-102.

[30] Kuroki T., & Matsushima T. Performance of short-term tests for detection of human carcinogens. Mutagenesis. 1987, 2 (1) pp. 333-337

[31] Ray V.A. et al. An approach to identifying specialized batteries of bioassays for specific classes of chemicals: Class analysis using mutagenicity and carcinogenicity relationships and phylogenetic concordance and discordance patterns. 1. Composition and analysis of the overall data base. A report of phase II of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat. Res.1987, 3 pp. 197-241.

[32] Dunkel VD., Schechtman LM., Tu AS., Sivak A., Lubet RA., Cameron TP. Interlaboratory evaluation of the C3H/10T1/2 cell transformation assay. Environ. Mol. Mutagen, 1988, 12 (1), No.1, pp. 12-31.

[33] Jones C.A., & Huberman E. Callaham, MF., Tu, A., Halloween, W., Pallota, S., Sivak, A., Lubet,RA., Avery, MD., Kouri, RE., Spalding, J. and Tennant, RW. An interlaboratory evaluation of the Syrian hamster emryo cell transformation assay using eighteen coded chemicals. Toxicol. In Vitro. 1988, 2 (2) pp. 103-116.

[34] Schectman, Rodent cell transformation assays—A brief historical perspective. Mutat. Res. 2012, 744 (1) pp. 3-7.

Bibliography for genotoxicity and carcinogenicity testing

[35] Morita T., Asano N., Awogi T., Sasaki Y.F., Sato S., Shimada H. et al. Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (groups 1, 2A and 2B) the summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS MMS. Collaborative Study of the Micronucleus Group Test. Mammalian Mutagenicity Study Group. Mutat. Res. 1997, 389 (1) pp. 3-122.

[36] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Some Monomers, Plastics, and Synthetic Elastomers and Acrolein, Vol. 19, 1979, pp. 41.

[37] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Surgical Implants and Other Foreign Bodies, Vol. 74, 1999, pp. 225-8.

[38] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Surgical Implants and Other Foreign Bodies, Vol. 74, 1999, pp. 282-97.

[39] Nakamura A. et al. Difference in tumor incidence and other tissue responses to polyetherurethanes and polydimethylsiloxane in long-term subcutaneous implantation into rats. J. Biomed. Mater.Res. 1992, 1992 pp. 631-650.

[40] Tsuchiya T ., & N akamura A. A new hypothesis of tumorigenesis induced by biomaterials:Inhibitory potentials of intercellular communication play an important role on the tumorpromotion stage. J. Long Term Eff. Med. Implants. 1995, 5 pp. 232-242.

[41] Department of Health. Guidelines for the testing of chemicals for mutagenicity. Londong: HMSO, 1989. (Report on Health and Social Security Subjects No. 35).

[42] Department of Health. Guidelines for the evaluation of chemicals for carcinogenicity. London: HMSO, 1992. (Report on Health and Social Security Subjects No. 42).

[43] Oppenheimer B. S., Oppenheimer E. T., Stout A. P. Sarcomas induced in rats by implanting cellophane. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1948, 67 (33).

[44] Brand K .G., J ohnson K.H., Buon L.C. Foreign Body, Tumorgenesis CRC Crit. Rev. Toxicology, October 1976, pp. 353.

[45] Brand L ., & B rand K.G. Testing of Implant Materials for Foreign Body Carcinogenesis. In Biomaterials, 1980, p. 819.

[46] Winter G.D., Gibbons D.F., Plenk H. Jr. eds. Advances in Biomaterials, Volume 3, New York, J.Wiley, 1982.

[47] Biological Bases for Interspecies Extrapolation of Carcinogenicity Data. Hill TA., Wands, RC.,Leukroth RW. Jr. (eds). (Prepared for the Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services, Washington, D.C.) July 1986, Bethesda (MD): Life Science Research Office, Federation of American Societies for Experimental Biology.

[48] National Toxicology Program Report of the BTP Ad Hoc Panel on Chemical Carcinogenesis Testing and Evaluation, August 1984, Board of Scientific Counselors.

[49] ASTM F 1439-39 Standard guide for performance of lifetime bioassay for the tumorgenic potential of implant materials.

[50] Carere A. et al. Methods and testing strategies for evaluating the genotoxic properties of chemicals, European Commision Report EUR 15945 EN, ISSN 1018-5593, Luxemburg (1995).

[51] Foran J.A. (ED), Principles for the selection of doses in chronic rodent bioassays, ILSI Risk Science Institute, Washington DC, USA, ISBN 0.944398-71-5, 1997.

Bibliography for reproductive/developmental toxicity testing

[52] Guideline for toxicity studies of drugs manual, Chapter 4: Reproductive and developmental toxicity studies. First edition. Editorial Supervision by New Drugs Division, Pharmaceutical Affairs Bureau, Ministry of Health and Welfare, 1990, Yakuji Nippo Ltd.

[53] Gabrielson J . L., & L arsson K . S. P roposal for improving risk assessment in reproductive toxicology. Pharmacol. Toxicol. 1990, 66 pp. 10-17.

[54] Neubert D. et al. Results of in vivo and in vitro Studies for Assessing Prenatal Toxicity.

Environ. Health Perspect. 1986, 70 pp. 89-103.

[55] Sadler T. W., Horton W. E., Warner C. W. Whole Embryo Culture: A Screening Technique for Teratogens? Teratog. Carcinog. Mutagen. 1982, 2 pp. 243-253.

[56] In vitro Methods in Developmental Toxicology: Use in Defining Mechanisms and Risk Parameters. GL. Kimmel and DM. Kochhar (eds.). Boca Raton (Florida): CRC Press, 1990.

[57] In vitro Embryotoxicity and Teratogenicity Tests. F. Homburger and AH. Goldberg (eds.). Concepts in Toxicology, Vol. 3. Karger, Basel, 1985.

[58] Brent R.L. Predicting Teratogenic and Reproductive Risks in Humans from Exposure to Various Environmental Agents Using In vitro Techniques and In vivo Animal Studies. Cong. Anom. 1988, 28 (Suppl.) pp. 41-55.

[59] Tsuchiya T., Nakamura A., Iio T., Takahasi A. Species Differences between Rats and Mice in the Teratogenic Action of Ethylenethiourea: In vivo/In vitro Tests and Teratogenic Activity of Sera Using an Embryonic Cell Differentiation System. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1991, 109 pp. 1-6.

[60] Tsuchiya T. et al. Embryolethality of new herbicides is not detected by the micromass teratogen tests. Arch. Toxicol. 1991, 65 pp. 145-149.

[61] Kistler A., Tsuchiya T., Tsuchiya M., Klaus M. Teratogenicity of arotinoids (retinoids) in vivo and in vitro. Arch. Toxicol. 1990, 64 pp. 616-622.

[62] Tsuchyia T. et al. Comparative Studies of Embryotoxic Action of Ethylenethiourea in Rat Whole Embryo and Embryonic Cell Culture. Teratology. 1991, 43 pp. 319-324.

[63] Report of the. in vitro teratology task force, Organized by the Division of Toxicology, Office of Toxicological Sciences, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration. Environ. Health Perspect. 1987, 72 pp. 200-235.

[64] Bass R. et al. Draft guideline on detection of toxicity to reproduction for medical products. Adverse Drug React. Toxicol. Rev. 1991, 9 (3) pp. 127-141.

[65] Brown et al. Screening chemicals for reproductive toxcity: the current approaches - the report and recommendations of an ECVAM/EST workshop (ECVAM Workshop 12). ATLA, 1995, 23, pp.868-882.

[66] Spielmann R. Reproduction and development. Environ. Health Perspect. 1998, 106 (Suppl. 2) pp. 571-576.

Bibliography for transgenic animal tests as alternatives to life-time carcinogenicity tests

[67] Storer R.D. Current status and use of short/medium term models for carcinogenicity testing of pharmaceuticals - scientific perspective. Toxicol. Lett. 2000, 112-113 pp. 557-566.

[68] Dass S.B. et al. Evaluation of the transgenic p53± mouse for detecting genotoxic liver carcinogens in a short-term bioassay. Cancer Lett. 1999, 143 pp. 81-85.

[69] Tennant R .W. e t al. G enetically a ltered mouse models f or identifying c arcinogens. IARC Sci. Publ. 1999, 146 pp. 123-150.

[70] Mahler J.F. et al. Spontaneous and chemically induced proliferative lesions in TG. AC transgenic and p53-heterozygous mice. Toxicol. Pathol. 1998, 26 pp. 501-511.

[71] Tamaoki N. The rasH2 transgenic mouse: Nature of the model and mechanistic studies on tumorigenesis. Toxicol. Pathol. 2001, 29 (Supplement) pp. 81-89.

[72] Usui T., Mutai M., Hisada S., Takaoka M., Soper K.E., McCullough B. et al. CB6F1-rasH2 mouse: Overview of available data. Toxicol. Pathol. 2001, 29 (Supplement) pp. 90-108.

[73] MacDonald J ., F rench J .E., G erson R .J., G oodman J ., I noue T., J acobs A. et al. The utility of genetically modified mouse assays for identifying human carcinogens: A basic under-

standing and path forward. Toxicol. Sci. 2004, 77 pp. 188-194.

[74] Urano K., Suzuki S., Machida K., Sawa N., Eguchi N., Kikuchi K. et al. Use of IC Tags in shortterm carcinogenicity study on CB6F1 TGrasH2 mice. J. Toxicol. Sci. 2006, 31 pp. 407-418.

Bibliography for an appropriate sample preparation procedure in genotoxicity testing

[75] Tsuji K. Mizumachi, S., Iida K., Oba T. Kobunshi Ronbunshu. 1977, 34 (4) pp. 287-290.

[76] Oba T., Tsuji K., N akamura A., Shintani H., Mizumachi S., K ikuchi H. et al. Migration of acetylated hemicellulose from capillary hemodialyzer to blood, causing scleritis and/or iritis. Artif. Organs. 1984, 8 (4) pp. 429-435.

[77] OECD Environment Directorate. Chemical group and management committee, Third Meeting of OECD Experts on Polymers (Tokyo, 14-16 April 1993) Chairman's Report.

[78] EPA Proposed Rule 40, CFR Part 723 (58 FR 7679), February 8, 1993.

[79] Nakamura A., K awasaki Y., Takada K., A ida Y., K urokawa Y., K ojima S. et al. Difference in tumor incidence and other tissue responses to polyetherurethanes and polydimethylsiloxane in long-term subcutaneous implantation into rats. J. Biomed. Mater. Res. 1992, 26 pp. 631-650.

[80] Nakamura A., K ojima S., Isama K., U memura T., K awasaki Y., Takada K. e t al. The effects of oligomers content and surface morphology on foreign-body tumorigenesis with polyetherurethanes: two years subcutaneous implantation study in rats. J. Long Term Eff. Med.Implants. 1995, 5 pp. 263-273.

[81] Reid, RC., Schwope, AD., Sidman, KR.: Modeling the migration of additives from polymer films to foods and food simulating liquids, MIT Industrial Liaison Program Report 1-14-84 Directory of Current Research: 3.04.077.

[82] Muller B.P., Ensslen S., Dott W., Hollender J. Improved sample preparation of biomaterials for in vitro genotoxicity testing using reference materials. J.Biomed. Mater. Res. 2002,61 pp.83-90.

[83] Matsuoka A., Isama K., Tsuchiya T. In vitro induction of polyploidy and chromatid exchanges by culture medium extracts of natural rubbers compounded with 2-mercaptobenzothiazole as a positive control candidate for genotoxicity tests. J. Biomed. Mater. Res. 2005, 75 pp. 439-444.

[84] Matsuoka A., Haishima Y., Hasegawa C., Matsuda Y., Tsuchiya T. Organic-solvent extraction of model biomaterials for use in the in vitro chromosome aberration test. J. Biomed. Mater. Res. 2008, 86 pp. 13-22.

[85] MHLW Notification by Director. OMDE, Yakushokuki-hatsu 0301 No. 20, March 1, 2012: Basic Principles of Biological Safety Evaluation Required for Application for Approval to Market Medical Devices, Part 3 Genotoxicity Test. YAKUJI NIPPO Ltd. Tokyo, 2012.

Bibliography for in vitro tests for embryotoxicity

[86] Brown N.A., Spielmann H., Bechter R., Flint O.P., Freeman S.J., Jelinek R.J. et al. Screening chemicals for reproductive toxicity: the current alternatives. The report and recommendations of an ECVAM/ETS workshop, ECVAM workshop 12. ATLA. 1995, 23 pp. 868-882.

[87] INVITTOX protocol no. 114. (1996). In vitro Micromass Teratogen Assay. The ERGATT/FRAME Data Bank of In vitro Techniques in Toxicology.

[88] Piersma A.H., Attenon P., Bechter R., Govers M .J.A.P., K rafft N., Schmid B.P. et al. Interlaboratory evaluation of embryotoxicity in the postimplantation rat embryo culture.Reprod. Toxicol. 1995, 9 pp. 275-280.

[89] Piersma A.H., Bechter R., Krafft N., Schmid B.P., Stadler J., Verhoef A. et al. An interlaboratory evaluation of five pairs of teratogens in postimplantation rat embryo culture. ATLA. 1996, 24 pp. 201-209.

[90] INVITTOX protocol no. 68. (1993). Embryotoxicity testing using a whole embryo culture WEC procedure. The ERGATT/FRAME Data Bank of In vitro Techniques in Toxicology.

[91] Scholz G., Genschow E., Pohl I., Bremer S., Paparella M., Raabe H. et al. Prevalidation of the Embryonic Stem Cell Test (EST), a new in vitro Embryotoxicity Test. Toxicol. In Vitro. 1999, 13 pp. 675-681.

[92] Spielmann H., Pohl I., Döring B., Liebsch M., Moldenhauer F. T he embryonic stem cell test (EST), an in vitro embryotoxicity test using two permanent mouse cell lines: 3T3 fibroblasts and embryonic stem cells. In Vitro Toxicol. 1997, 10 pp. 119-127.

[93] Seiler A., Buesen R., Visan A., Spielmann H. Use of Murine Embryonic Stem Cells in Embryotoxicity Assays: The Embryonic Stem Cell Test. Methods Mol. Biol. 2006, … pp. 371-395.

[94] INVITTOX protocol no. 113. (1996). Embryonic Stem Cell Test (EST). The ERGATT/FRAME Data Bank of In vitro Techniques in Toxicology.

[95] Genschow E., Spielmann H., Scholz G., Seiler A., Brown N.A., Piersma A. et al. The ECVAM international validation study on in vitro embryotoxicity tests. Results of the definitive phase and evaluation of prediction models. ATLA. 2002, 30 pp. 151-176.

[96] Brown N.A. Selection of test chemicals for the ECVAM international validation study on in vitro embryotoxicity tests. ATLA. 2002, 30 pp. 177-198.

[97] Genschow E., Spielmann H., Scholz G., Pohl I., Seiler A., Clemann N. et al. Validation of the embryonic stem cell test (EST) in the international ECVAM validation study of three in vitro embryotoxicity tests. ATLA. 2004, 32 pp. 209-244.

[98] Spielmann H., Genschow E., Brown N.A., Piersma A.H., Verhoef A., Spanjersberg M. Q.I. et al. Validation of the postimplantation rat limb bud micromass (MM) test in the international ECVAM validation study of three in vitro embryotoxicity tests. ATLA. 2004, 32 pp. 245-274.

[99] Piersma A.H., Genschow E., Verhoef A., Spanjersberg M.Q.I., Brown N.A., Brady M. et al.Validation of the rat postimplantation whole embryo culture test (WEC) in the international ECVAM validation study of three in vitro embryotoxicity tests. ATLA. 2004, 32 pp. 275-307.

[100] Balls M., & Hellsten E. Statement of the scientific validity of the embryonic stem cell test (EST)- an in vitro test for embryotoxicity. —Statement of the scientific validity of the micromass test -an in vitro test for embryotoxicity. —Statement of the scientific validity of the postimplantation rat whole embryo culture assay- an in vitro test for embryotoxicity. ATLA. 2002, 30 pp. 265-273.

[101] Spielmann H., Seiler A., Bremer S., Hareng L., Hartung T., Ahr H. et al. The practical application of three validated in vitro embryotoxicity tests. The report and recommendations of an ECVAM/ZEBET workshop (ECVAM workshop 57). Altern. Lab. Anim. 2006, 5 pp. 527-538.

Bibliography for tests to evaluate genotoxicity

[102] Ashby J ., & T inwell H. The rodent bone marrow micronucleus assay: contrast between its sensitivity to human carcinogens and its insensitivity to NTP rodent carcinogens Mutat. Res.

[103] Benigni R. Mouse bone marrow micronucleus assay: relationships with in vitro mutagenicity and rodent carcinogenicity J. Toxicol. Environ. Health. 1995, 45 pp. 337-347.

[104] Cimino M. Comparative Overview of Current International Strategies and Guidelines for Genetic Toxicology Testing for Regulatory Purposes. Environ. Mol. Mutagen. 2006, 47 pp. 362-390.

[105] Committee on Mutagencity (2000) Guidance on a Strategy for Testing of Chemicals for Mutagenicity, December.

[106] ICH. Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use. Step. 2011 November, 4 p. 9

[107] Draft 2008 S2(R1) Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals In-

tended for Human Use.

[108] Elespuru R.K. et al. FORUM: Current and Future Application of Genetic Toxicity Assays: The Role and Value of In vitro Mammalian Assays. Toxicol. Sci. 2009, 109 pp. 172-179.

[109] Website F. D. A. Limits of Recognition of ISO 10993-3 available at http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfStandards/search.cfm.

[110] Glatt H., Padykula R., Berchtold G.A., Ludewig G., Platt K.L., Klein J. et al. Multiple Activation Pathways of benzene leading to products with varying genotoxic characteristics. Environ. Health Perspect. 1989, 82 pp. 81-89.

[111] Gollapudi B., Schisler M.R., Moore M.M. Evaluation of publicly available mouse lymphoma assay data using currently accepted standards to establish a curated data base. Toxicologist. 2010, 114 p. 148.

[112] Kim B.S., & M argolin B.H. Prediction of Rodent Carcinogenicity Utilizing a Battery of In vitro and In vivo Genotoxicity Tests -. Environ. Mol. Mutagen. 1999, 34 pp. 297-304.

[113] Kirkland D., Aardema M., Henderson L., Muller L. Evaluation of the ability of a battery of three in vitro genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens I. Sensitivity, specificity and relative predictivity -. Mutat. Res. 2005, 584 pp. 1-256.

[114] Morita T., Asano N., Awogi T., Sasaki Y.F., Sato S., Shimada H. et al. Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (groups 1, 2A and 2B)—The summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS MMS. Mutat. Res. 1997, 389 pp. 3-122.

[115] Rosenkranz H., & Cunningham A. The high production volume chemical challenge program: the relevance of the in vivo micronucleus assay. Regul. Toxicol. Pharmacol. 2000, …pp.182-189.

[116] Shelby M.D. Selecting chemicals and assays for assessing mammalian germ cell mutagenicity. Mutat. Res. 1996, 352 (3) pp. 159-167.

[117] Shelby M.D., Erexson G.L., Hook G.J., Tice R.R. Evaluation of the three-exposure mouse bone marrow micronucleus protocol, results with 49 chemicals. Environ. Mol. Mutagen. 1993, 21 pp. 160-179.

[118] Shelby M.D., & Zeiger E. Activity of human carcinogens in the Salmonella and rodent bone marrow cytogenetics tests. Mutat. Res. 1990, 234 (3-4) pp. 257-261.

[119] Snyder R.D. An Update on the Genotoxicity and Carcinogenicity of Marketed Pharmaceuticals with Reference to In Silico Predictivity. Environ. Mol. Mutagen. 2009, 50 pp. 435-450.

[120] Tweats D.J., Blakey D., Heflich R.H., Jacobs A., Jacobsen S.D., Morita T. et al. Report of the IWGT working group on strategy/interpretation for regulatory in vivo tests II. Identification of in vivo-only positive compounds in the bone marrow micronucleus test. Mutat. Res. 2007, 627 pp. 92-105.

[121] Tweats D.J., Scott A.D., Westmoreland C., Carmichael P.L. Determination of genetic toxicity and potential carcinogenicity in vitro - challenges post the seventh amendment to the European Cosmetics Directive. Mutagenesis. 2007, 22 pp. 5-13.

[122] Witt K., Knapton A., Wehr C., Hook G., Mirsalis J., Shelby M. et al. Micronucleated erythrocyte frequency in peripheral blood of B6C3F Mice from short-term, prechronic, and chronic

studies of the NTP carcinogenesis bioassay program. Environ. Mol. Mutagen. 2000, 36 pp. 163-194.

[123] ISO/TR 10993-33:2015 Biological evaluation of medical devices—Part 3: Supplement to ISO 10993-3—Guidance on tests to evaluate genotoxicity

中华人民共和国
国家标准

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

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址：www.spc.org.cn
服务热线：400-168-0010
2019年6月第一版

*

书号：155066·1-62352

版权专有　侵权必究

GB/T 16886.3-2019