



中华人民共和国医药行业标准

YY 0719.7—2011

眼科光学 接触镜护理产品 第7部分:生物学评价试验方法

Ophthalmic optics—Contact lens care products—
Part 7: Biological evaluation test methods

2011-12-31 发布

2013-06-01 实施



国家食品药品监督管理局 发布

前 言

YY 0719《眼科光学 接触镜护理产品》标准分为 7 个部分：

- 第 1 部分：术语；
- 第 2 部分：基本要求；
- 第 3 部分：微生物要求和试验方法及接触镜护理系统；
- 第 4 部分：抗微生物防腐有效性试验及测定抛弃日期指南；
- 第 5 部分：接触镜和接触镜护理产品物理相容性的测定；
- 第 6 部分：有效期测定指南；
- 第 7 部分：生物学评价试验方法。

本部分为 YY 0719 的第 7 部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分给出的生物学试验方法是根据 GB/T 16886.1《医疗器械生物学评价 第 1 部分：评价与试验》的基本原则以及接触镜护理产品的特性，针对接触镜护理产品的生物学评价需求制定而成。

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。

本部分由全国医用光学和仪器标准化分技术委员会(SAC/TC 103/SC 1)提出并归口。

本部分起草单位：国家食品药品监督管理局杭州医疗器械质量监督检验中心、浙江省医疗器械检验所。

本部分主要起草人：陈献花、姜晓路、方丽、李雪来。

眼科光学 接触镜护理产品

第7部分：生物学评价试验方法

1 范围

YY 0719 的本部分规定了接触镜护理产品的生物学试验方法。
本部分适用于接触镜护理产品。

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。

- GB/T 16886.1 医疗器械生物学评价 第1部分：评价与试验
- GB/T 16886.5 医疗器械生物学评价 第5部分：体外细胞毒性试验
- GB/T 16886.10 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 16886.11 医疗器械生物学评价 第11部分：全身毒性试验
- 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 28538 眼科光学 接触镜和接触镜护理产品 兔眼相容性研究试验
- GB/T 28539 眼科光学 接触镜和接触镜护理产品 防腐剂的摄入和释放的测定指南
- YY 0719.1 眼科光学 接触镜护理产品 第1部分：术语
- YY 0719.2 眼科光学 接触镜护理产品 第2部分：基本要求

3 细胞毒性试验

3.1 目的

本试验是评价接触镜护理产品，和（或）其附着于接触镜或渗入到接触镜中的残留物的潜在毒性。

3.2 试剂

小牛血清（胎牛血清）、细胞培养液（细胞生长液、细胞维持液、不含牛血清的细胞培养液）、胰酶溶液、苯酚、无 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的磷酸盐缓冲液、青霉素、硫酸链霉素、组织培养用琼脂、双倍细胞培养液。

所有试剂经过适宜的方法进行灭菌。

3.3 主要设备和器具

超净工作台、二氧化碳培养箱、压力蒸汽灭菌器、电热干燥箱、恒温水浴箱、冰箱、倒置显微镜、光学显微镜、移液管、细胞培养板（皿）、细胞培养瓶、一次性细菌过滤器等。

所有器皿经过适宜的方法进行灭菌。

所有器皿要符合组织培养级别的要求，并适用于哺乳动物细胞培养。

3.4 细胞株

可采用 ATCC CCL1[NCTC clone929（小鼠成纤维细胞）]或其他适宜的细胞株，试验采用传代 48 h~72 h，形态良好，生长旺盛的细胞。

3.5 对照样品

- 3.5.1 阴性对照:无 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的磷酸盐缓冲液。
3.5.2 阳性对照:5%的苯酚溶液或其他具有细胞毒性的物质。

3.6 供试液制备

- 3.6.1 直接接触人眼的接触镜护理产品(如润眼液、多功能护理液),直接取样品作为供试液。
3.6.2 间接接触人眼的接触镜护理产品(如双氧水护理液)按产品说明书模拟实际使用操作,取其最终接触人体的产物作为供试液。

3.7 试验前准备

将已培养 48 h~72 h,形态良好,生长旺盛的细胞制成细胞悬液(可利用胰酶、乙二胺四乙酸二钠或胰酶+乙二胺四乙酸二钠的消化液),细胞计数测得细胞悬液浓度,并按试验方法要求配制成一定浓度的细胞悬液。

3.8 试验方法——琼脂扩散法

- 3.8.1 制备 1×10^5 个/mL 的细胞悬液。
3.8.2 将细胞悬液加到 $\phi 60$ mm 培养皿中,每个培养皿 4.5 mL,共 6 个培养皿。
3.8.3 将所有培养皿放入 5% CO_2 培养箱(含体积分数 5%二氧化碳气体,下同)(37 ± 1) °C 饱和湿度培养 24 h,细胞长成单层。
3.8.4 弃去原培养液,在每个培养皿中加入 4.5 mL 的“琼脂膜质”。在 CO_2 培养箱中培养约 30 min,使其凝固。琼脂膜质为双倍细胞培养基与 0.5%组织培养用琼脂等量混合。

注:在混合后和加入到培养皿中不得凝固,同时避免高温使培养基中的蛋白质变性或氨基酸降解等问题发生。

- 3.8.5 在凝固的琼脂表面加入 4.5 mL 新配制的中性红活性染色液(或其他细胞活性染色液),(37 ± 1) °C 下在暗处培养 0.5 h,吸出多余的染色液。
3.8.6 用直径 0.9 cm 的滤膜吸取试验液 100 μL ,轻轻将滤膜放在琼脂表面,阳性对照组、阴性对照组和供试液组各平行操作 2 皿。
3.8.7 在 5% CO_2 培养箱中(37 ± 1) °C 饱和湿度培养 24 h~48 h。
3.8.8 结果分析:在倒置显微镜下观察阳性对照组、阴性对照组和供试液组滤膜正下方和周围细胞的生长状况以及染料脱色情况。用表 1~表 3 评分系统进行评分。

表 1 评分系统(区域指数)

区域指数(Z)	区域描述
0	在样品的周围和下面没有能观察的区域
1	区域限定在样品正下方
2	样品周围区域 ≤ 5 mm
3	样品周围区域 > 5 mm, ≤ 10 mm
4	样品周围区域 > 10 mm,但没有覆盖整个平板
5	区域覆盖整个平板

脱色区域中细胞溶解(如果有)的程度可用表 2 来评价:

表 2 评分系统(溶解指数)

溶解指数(L)	溶解程度描述
0	没有观察到溶解
1	达到 20% 的细胞溶解
2	细胞溶解在 20%~40% 之间(含 40%)
3	细胞溶解在 40%~60% 之间(含 60%)
4	细胞溶解在 60%~80% 之间(含 80%)
5	超过 80% 的细胞溶解

表 3 评分系统(反应程度)

评价	反应程度	反应指数 R(Z/L)
0	无细胞毒性	0/0~0.5/0.5*
1	轻微细胞毒性	1/1~1.5/1.5
2	中度细胞毒性	2/2~3/3
3	重度细胞毒性	4/4~5/5
* 如果反应系数 0.5/0.5 是从两个 1/1 和 0/0 的结果平均获得,则试验需重做。		

注：其他可参照的试验方法见附录 A。

3.9 结果评价

接触镜护理产品按其预期用途选择不同试验方法并进行相应的结果评价。

3.10 试验报告

试验报告应给出下列信息：

- a) 供试品名称；
- b) 生产批号或生产日期；
- c) 供试液制备方法；
- d) 试验用培养基、细胞株和阴性、阳性及其他对照品；
- e) 试验步骤；
- f) 细胞形态描述、测定数据和其他情况。

4 皮肤刺激试验

4.1 目的

本试验是对接触镜护理产品在试验条件下产生皮肤刺激反应的潜在性做出评价。

注 1：基于动物福利要求，依据 GB/T 16886.2，供试品若存在皮肤刺激性，则不再进行眼刺激试验。

注 2：如制造商使用了与目前市售等同或相类似的接触镜护理产品，可直接进行眼刺激试验。

4.2 主要设备和器具

动物天平、注射器。

4.3 试验动物准备

按 GB/T 16886.10 的规定。

4.4 供试液制备

4.4.1 直接接触人眼的接触镜护理产品(如润眼液、多功能护理液),直接取样品作为供试液。

4.4.2 间接接触眼睛的接触镜护理产品(如双氧水护理液)按产品说明书模拟实际使用操作,取其最终接触人体的产物作为供试液。

4.5 试验步骤和结果评价

按 GB/T 16886.10 中的单次接触试验方法进行操作和评价。

4.6 试验报告

试验报告中应给出下列信息:

- a) 试验样品名称;
- b) 生产批号或生产日期;
- c) 试验动物的描述;
- d) 供试液制备;
- e) 试验步骤;
- f) 观察记录;
- g) 结果评价。

5 急性眼刺激试验

5.1 目的

本试验是评价接触镜护理产品引起眼部刺激的潜在性。

注1:如配方中含有已知的眼刺激成分,可不进行本试验。在这种情况下,可在产品标识中对眼刺激性进行适当的警告,以替代本试验的实施。

注2:如制造商使用了目前市售的接触镜护理产品中未使用过的新防腐剂或活性成分及化学成分,则需依据 GB/T 28538 进行兔眼相容性研究试验。

5.2 试验动物准备

按 GB/T 16886.10 的规定。

5.3 供试液制备

5.3.1 直接接触人眼的接触镜护理产品(如润眼液、多功能护理液),直接取样品作为供试液。

5.3.2 间接接触眼睛的接触镜护理产品(如双氧水护理液)按产品说明书模拟实际使用操作,取其最终接触人体的产物作为供试液。

5.4 试验步骤和结果评价

按 GB/T 16886.10 中的急性接触试验方法进行操作和评价。

5.5 试验报告

试验报告中应给出下列信息:

- a) 试验样品名称;
- b) 生产批号或生产日期;
- c) 试验动物的描述;
- d) 供试液制备;
- e) 试验步骤;
- f) 观察记录;
- g) 结果评价。

6 急性经口毒性

6.1 目的

本试验是评价接触镜护理产品在单次口服剂量时的经口毒性的潜在性。

6.2 主要设备和器具

注射器、灌胃针、动物天平。

6.3 试验动物准备

6.3.1 试验采用健康、初成年小白鼠,同一品系并同一来源,雌鼠无孕,体重 17 g~23 g。在试验前使小白鼠适应实验室环境。

6.3.2 每组试验用小白鼠 10 只,雌雄各半。每个笼内饲养同性别的小鼠 5 只,并做好标记。

6.4 供试液制备

6.4.1 直接接触人眼的接触镜护理产品(如润眼液、多功能护理液),直接取样品作为供试液。

6.4.2 间接接触眼睛的接触镜护理产品(如双氧水护理液)按产品说明书模拟实际使用操作,取其最终接触人体的产物作为供试液。

6.5 试验步骤

6.5.1 用连有灌胃针的注射器或其他适宜的灌胃法进行灌胃。灌胃前需禁食 4 h~8 h,禁食期间不禁水。

6.5.2 灌胃剂量为 25 mL/kg。

6.5.3 灌胃前、灌胃后 7 d 和 14 d,称量动物体重。

6.5.4 灌胃后每天观察动物毒性反应,毒性反应分级见表 4。

表 4 毒性反应分级

反应程度	症状
无	未见毒性反应
轻度	轻微运动机能减退,呼吸困难或腹部刺激
中度	明显腹部刺激,呼吸困难,运动机能减退,眼睑下垂,腹泻
重度	虚脱、发绀、震颤,严重的腹泻,眼睑下垂或呼吸困难
死亡	死亡

6.6 结果评价

- 6.6.1 在试验观察期间,所有试验动物均未见毒性反应,则试验样品无急性全身毒性反应。
- 6.6.2 如两只或两只以上出现重度或死亡,或3只及3只以上出现体重下降超过10%,则试验样品有急性全身毒性反应。
- 6.6.3 试验动物仅显示轻微反应,且不多于一只动物出现毒性反应症状为重度或死亡,应重复试验。重复试验结果符合6.6.1要求,则试验样品无急性全身毒性反应。

6.7 试验报告

试验报告中应给出下列信息:

- a) 试验样品名称;
- b) 生产批号或生产日期;
- c) 试验动物的描述;
- d) 供试液制备;
- e) 试验步骤;
- f) 观察记录;
- g) 结果评价。

7 皮肤致敏试验

7.1 目的

本试验是采用接触镜护理产品的供试液与豚鼠皮肤接触,以评价接触镜护理产品在试验条件下引发皮肤致敏反应的潜在性。

7.2 试剂

质量浓度为9 g/L的氯化钠注射液、二硝基氯苯(DNCB)、十二烷基硫酸钠、弗氏完全佐剂。

7.3 主要设备和器具

压力蒸汽灭菌器、电剃刀、注射器、动物天平。

7.4 试验动物准备

按GB/T 16886.10的规定。

7.5 对照样品

质量浓度为9 g/L的氯化钠注射液。

7.6 供试液制备

- 7.6.1 直接接触人眼的接触镜护理产品(如润眼液、多功能护理液),直接取样品作为供试液。
- 7.6.2 间接接触眼睛的接触镜护理产品(如双氧水护理液)按产品说明书模拟实际使用操作,取其最终接触人体的产物作为供试液。

7.7 试验步骤和结果评价

按GB/T 16886.10规定的“迟发型超敏反应最大剂量试验”进行操作和评价。

7.8 试验报告

试验报告中应给出下列信息：

- a) 试验样品名称；
- b) 生产批号或生产日期；
- c) 试验动物的描述；
- d) 供试液制备；
- e) 试验步骤；
- f) 观察记录；
- g) 结果评价。

8 兔眼相容性研究试验和防腐剂的摄入和释放的测定

按照 GB/T 28538 与 GB/T 28539 进行。



附 录 A
(资料性附录)
体外细胞毒性试验方法

A.1 显微镜观察法

- A.1.1 制备 1×10^5 个/mL 的细胞悬液。
- A.1.2 将细胞悬液加到 $\phi 35$ mm 培养皿中,每个培养皿 2.5 mL。
- A.1.3 将所有培养皿放入 CO₂ 培养箱 (37±1) °C 培养 24 h,细胞长成单层。
- A.1.4 弃去原培养液,分别加入阳性对照液、适宜浓度或浓度梯度的阴性对照液和与阴性对照组一致浓度的供试液,各平行操作 2 皿。
- A.1.5 在 CO₂ 培养箱 (37±1) °C 继续培养 24 h~48 h。
- A.1.6 结果分析:每组进行细胞形态学观察并作文字记录。阴性对照组应为 0 级反应,阳性对照组至少为 3 级反应。用表 A.1 分级系统进行评分。

表 A.1 分级系统

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,偶细胞溶解
2	轻微	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间
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

A.2 增殖度法

- A.2.1 制备 1×10^4 个/mL 的细胞悬液。
- A.2.2 在 96 孔细胞培养板中分别加入细胞悬液 100 μ L,设空白对照(无细胞)、阴性对照、阳性对照和试验组,每组各设至少 6 孔,置 CO₂ 培养箱 (37±1) °C 培养 24 h。
- A.2.3 培养 24 h 后弃去原培养液,空白对照组加入新鲜培养液,阴性对照组加入适宜浓度或浓度梯度的阴性对照品供试液、阳性对照组加入阳性对照溶液或阳性对照品供试液,试验组加入与阴性对照组一致浓度的供试液,每孔 100 μ L 置 CO₂ 培养箱 (37±1) °C 培养 24 h~72 h。
- A.2.4 细胞形态学观察和计数方法如下:
- a) 培养后,每组进行细胞形态学观察和测定细胞量。
- 方法:在试验孔、阴性对照孔、阳性对照孔以及空白孔中加入细胞活性染色剂(如 MTT 试剂、CKK-8 试剂等),一定温度和时间后,在酶标仪上用相应波长进行检测吸光度。
- b) 细胞形态用倒置显微镜观察并作文字记录。
- A.2.5 结果分析:根据细胞形态分析和细胞相对增殖率(RGR)对结果进行评价,细胞毒性反应分级见表 A.2。

$$RGR = \frac{A}{A_0} \times 100\%$$

式中：

A —— 试验品吸光度；

A₀—— 阴性对照组吸光度。

表 A.2 细胞毒性反应分级

级别	相对增殖率(RGR)/%
0	≥ 100
1	80~99
2	50~79
3	30~49
4	0~29

中 华 人 民 共 和 国 医 药
行 业 标 准
眼 科 光 学 接 触 镜 护 理 产 品
第 7 部 分：生 物 学 评 价 试 验 方 法
YY 0719.7—2011

*

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 (100013)
北 京 市 西 城 区 三 里 河 北 街 16 号 (100045)
网 址 www.spc.net.cn
总 编 室：(010)64275323 发 行 中 心：(010)51780235
读 者 服 务 部：(010)68523946
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 1 字 数 18 千 字
2013 年 2 月 第 一 版 2013 年 2 月 第 一 次 印 刷

*

书 号：155066·2-24474 定 价 24.00 元



YY 0719.7—2011

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)68510107