

## 药包材生物学评价配套试验方法的起草说明

一、目的意义：为配合 9651《药包材生物学评价与试验选择指导原则》的实施，制定配套系列试验方法。

二、总体思路：按照 9651《药包材生物学评价与试验选择指导原则》内容，根据所包装制剂实际使用情况，充分考虑不同类型药包材的预期使用风险，制定并验证适用的药包材提取条件，制定配套试验方法。

三、起草过程：起草组在对比分析我国药包材标准与美国药典、ICH、ISO 以及 OECD 指南之间的异同，在对关键技术方法和指标进行试验验证的基础上，经多次会议讨论形成标准草案稿。

### 四、需重点说明的问题

1.试验方法附 3：细胞和动物来源的说明。试验方法如使用细胞，应保证细胞来源清楚，如有发票、质检报告等，且应清楚记录细胞代数，便于溯源。试验方法如使用动物，动物应符合国家有关规定的等级要求，其来源、品系、遗传背景清楚，并具有实验动物质量合格证。

2.试验方法附 4：将替代《中国药典》2020 年版四部通则 4014《药包材细胞毒性检查法》，在原有标准相关测试方法的基础上，规定了药包材的细胞毒性试验方法，采用细胞存活率在试验条件下产生的细胞毒性潜能。

3.试验方法附 5：规定了药包材的皮肤致敏试验方法，用于判定药包材在试验条件下使豚鼠产生的皮肤致敏反应。分级标准不再采用 YBB00052003-2015《皮肤致敏检查法》中豚鼠致敏试验选用的皮肤记分系统，而是采用美国药典<1184><88>《致敏试验》所规定的 Magnusson 和 Kligman 分级标准评级。结果判定，对照组动物分级小于 1，而供试品组分级大于等于 1 时提示致敏。如对照组动物分级大于等于 1 时，供试品组动物反应超过对照组中最严重的反应则认为致敏，致敏反应率(%)分成了 6 个等级。

4.试验方法附 6：规定了药包材的皮内反应试验方法，用于判定药包材在试验条件下产生的刺激反应。采用了皮肤反应记分标准，对皮内反应程度进行记分，更加科学地评价药包材产生的皮内反应。对供试品有无皮内反应提出明确判定标准，并对复试条件及复试情况下皮内反应判定标准进行了规定。

5.试验方法附 7：规定了药包材的皮肤刺激试验方法，用于判定药包材在试验条件下使兔产生的皮肤刺激反应。药包材预期与患者间接接触，所以药包材皮肤刺

激检查采用浸提液方法。采用了皮肤反应记分标准，对受试动物的红斑、水肿进行记分，更加科学地评价药包材产生的皮肤反应。通过“原发性刺激指数和皮肤反应分级标准”对刺激性程度进行量化评价。关于贴敷时间，采用 GB/T 16886.10-2017《医疗器械生物学评价 第 10 部分：刺激与皮肤致敏试验》“在除去贴敷物（ $1\pm 0.1$ ）小时、（ $24\pm 2$ ）小时、（ $48\pm 2$ ）小时、（ $72\pm 2$ ）小时对试验部位进行观察”，设定允许误差后，可操作性更强。

6. 试验方法附 8：规定了药包材的口腔黏膜刺激反应试验方法，用于判定药包材在试验条件下产生的刺激反应。本试验方法所列试验方法需用金黄色地鼠进行试验，主要有以下几点考虑：（1）金黄地鼠体积较小，试验操作过程中抓取容易，（2）金黄地鼠口腔具有颊囊结构，这一特殊结构适用于口腔黏膜刺激试验，试验前检查动物颊囊表面有无充血、肿胀、糜烂以及溃疡等情况，是必需的，颊囊若存在异常情况，应淘汰该动物。病理组织学检查中取材需要注意，取接触部位的黏膜及其周围组织固定后进行病理组织切片制备，这种取材方式有助于取出代表性的组织进行观察。采用“口腔反应记分系统”对口腔黏膜刺激性程度进行量化，通过显微镜检查“口腔组织反应”并记分。

7. 试验方法附 9：规定了药包材的眼刺激试验方法，用于判定药包材在试验条件下产生的眼刺激反应。采用了眼损伤记分系统，对观察到的反应进行记分，更加科学地评价药包材在试验条件下产生的眼刺激反应。对供试品有无眼刺激提出明确判定标准，并对复试条件及复试情况下眼刺激反应判定标准进行了规定。

8. 试验方法附 10：规定了药包材的溶血试验方法，用于评估药包材引起体外溶血的程度，将替代《中国药典》2020 年版四部通则 4013《药包材溶血检查法》。分别规定了稀释兔血制备、提取溶剂、供试品制备、阴性对照、阳性对照、试验方法、结果计算和结果判定。其中需要重点说明的有以下几点：溶血试验使用兔血，可以采用不同的抗凝剂，但抗凝剂与兔血的比例有差异，3.2%枸橼酸钠抗凝剂与血液的比例一般为 1:9（体积比），2%草酸钾为 1:20，分别进行规定；供试品制备方法与附 2 不同，浸提比例为 5g/10mL，此比例大于 GB/T16886.12 中的标准浸提比例，为了能充分浸提，需要将供试品剪成小块；试验方法中，对于离心速度的规定，考虑到离心速度相同时，由于离心机的不同，离心时所受离心力不同。参考医疗器械溶血试验方法，将离心速度定为 800g。

9. 试验方法附 11：将替代《中国药典》2020 年版四部通则 4011《药包材急性全

身毒性检查法》，在原有标准相关测试方法的基础上，规定了药包材的急性全身毒性试验方法，用于判定药包材在试验条件下产生急性全身毒性反应的潜能。

10.试验方法附 12：规定了药包材的细菌回复突变试验方法，分别在有或无代谢活化系统时，采用回变菌落数判定药包材在试验条件下产生的遗传毒性。试验用菌株：采用 5 种鼠伤寒沙门氏菌突变型菌株进行试验，推荐的菌株组合为:a) 组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌株 TA97 或 TA1537 或 TA97a; b) 组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌株 TA98; c) 组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌株 TA100; d)组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌株 TA102，或大肠杆菌 WP2 uvrA，或 WP2 uvrA(pKM101); e) 组氨酸缺陷型鼠伤寒沙门氏菌株 TA1535。除指导原则提到的提取溶剂，还可选择与试验体系相容的其他提取溶剂，如二甲亚砜（DMSO）等。另外给出了二甲亚砜和水（或 0.9%氯化钠注射液）在试验条件下的终浓度。

11.试验方法附 13：规定了药包材的体外哺乳动物细胞染色体畸变试验方法，分别在有或无代谢活化系统时，采用染色体结构畸变率判定药包材在试验条件下产生的遗传毒性。选用的细胞系包括中国仓鼠肺细胞（CHL）、中国仓鼠卵巢细胞（CHO）等。需定期检查细胞系核型和染色体数目的稳定性以及支原体污染情况，否则不宜使用。

12.试验方法附 14：参考美国药典<87>《体外生物反应性试验》、ISO 10993-3《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》、OECD 试验指南 490《利用 TK 基因进行体外哺乳动物细胞基因突变试验》，规定了药包材的体外哺乳动物细胞 TK 基因突变试验方法，分别在有或无代谢活化系统时，采用突变频率判定药包材在试验条件下产生遗传毒性的潜能。选择使用小鼠淋巴瘤细胞系（L5178Y TK<sup>+/+</sup>-3.7.2C）。鉴于细胞性状稳定性要求，试验细胞系最好新取自冻存细胞。细胞在 37℃，5% CO<sub>2</sub> 条件下培养，细胞的增殖周期为 10 小时左右。经过传代培养后，保证细胞呈对数生长状态，细胞持续培养最多不超过 3 个月。

13.试验方法附 15：规定了药包材的体外哺乳动物细胞微核试验方法，分别在有或无代谢活化系统时，采用双核细胞中微核率判定药包材在试验条件下产生的遗传毒性。选用的细胞系包括中国仓鼠肺细胞（CHL）、中国仓鼠卵巢细胞（CHO）、中国仓鼠肺细胞（V79）、小鼠淋巴瘤细胞（L5178Y）或人细胞系如 TK6 等。需定期检查细胞系核型和染色体数目的稳定性以及支原体污染情况，否则不宜使用。