

《牙科学 医疗器械脱落或释放纳米颗粒体外细胞毒性评价 细胞周期同步化方法》

国家标准化指导性技术文件编制说明

标准起草组

二〇二六年三月

一、工作简况

（一）任务来源

本标准任务来源是国家药品监督管理局医疗器械注册管理司械注[2026]178号文件《关于同意〈牙科学 脱敏剂〉等2项医疗器械国家标准化指导性技术文件项目申请的函》，由国家药品监督管理局提出，全国口腔材料和器械设备标准化技术委员会（SAC/TC 99）归口，北京大学口腔医学院口腔医疗器械检验中心牵头起草，项目编号2025006950，项目周期拟定12个月，标准性质为国家标准化指导性技术文件，旨在填补口腔医疗器械纳米颗粒细胞毒性评价领域的方法空白，规范行业检测技术要求。

（二）制定背景

随着纳米技术在口腔医疗器械领域的广泛应用，纳米口腔医疗器械在临床使用过程中存在纳米颗粒脱落或释放的现象，其潜在的生物毒性风险已成为行业安全评估的重点问题。传统的体外细胞毒性评价方法采用异步生长细胞群体，无法精准反映纳米颗粒对不同细胞周期阶段细胞的毒性差异，而口腔组织细胞（如牙龈上皮细胞、牙髓干细胞）具有不同的增殖周期特征，对纳米颗粒的敏感性存在显著阶段差异，现有评价方法难以满足精准风险评估的需求。

目前国内相关标准仅对医疗器械体外细胞毒性试验做出通用规定（如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》、YY/T 0127.9-2009《口腔医疗器械生物学评价 第2单元：试验方法 细胞毒性试验：琼脂扩散法及滤膜扩散法》、YY/T 0127.18-2016《口腔医疗器械生物学评价 第18部分：牙本质屏障细胞毒性试验》、YY/T 0993—2015《医疗器械生物学评价 纳米材料：体外细胞毒性试验（MTT 试验和LDH 试验）》、GB/T 16886.22—2022《医疗器械生物学评价 第22部分：纳米材料指南》），尚未针对口腔医疗器械脱落/释放纳米颗粒的特点，建立细胞周期同步化的专属评价方法，行业内检测方法不统一、结果可比性差，制约了纳米口腔医疗器械的研发、检测与市场监管。为科学、准确评估纳米颗粒的体外细胞毒性，揭示其对细胞生长、代谢的周期特异性影响，亟需制定本标准，为口腔医疗器械的安全评价提供统一、规范的技术方法，保障临床使用安全。

（三）起草过程

1、立项筹备阶段（2025年3月-2025年5月）牵头单位联合口腔医疗器械检验、研发、临床等领域的专家，开展国内外相关标准、文献调研，梳理纳米颗粒细胞毒性评价及细胞周期同步化技术的研究现状，分析行业实际需求，完成标准立项申请材料的编制。

2、草案起草阶段（2025年6月-2025年9月）：成立标准起草工作组，明确分工，结合口腔医疗器械的产品特点和检测实践，确定标准的核心技术框架，起草标准草案初稿；多次组织工作组内部研讨，对标准的范围、术语、试验方法、接受准则等核心内容进行打磨，形成草案征求意见稿。

3、验证完善阶段（2025年10月-2026年2月）：为验证标准方法的有效性、重现性和灵敏度，起草组起草组联合北京大学基础医学院、国家纳米科学中心等多家单位制定专项验证实施方案，制定专项验证实施方案，典型口腔医疗器械材料开展验证试验，优化细胞周期同步化条件、MTT 检测步骤等技术细节，根据验证结果对草案进行修订完善，处理各类反馈意见，形成最终的征求意见稿。并于2026年4月向社会发出征求意见稿。

4. 起草人分工：

（1）邓旭亮：统筹标准编制全流程，指导纳米颗粒细胞毒性评价核心技术方向与研究推进，全程审核标准全文及编制说明关键内容，把控整体编制质量与进度。

（2）张学慧：牵头文献调研与行业现状分析，组织专家论证会并汇总处理论证意见，为细胞周期同步化方法的标准制定提供理论支撑与实践依据。

（3）卫彦：牵头论证医疗器械脱落/释放纳米颗粒体外评价的核心技术路径，组织工作

组技术研讨与方案迭代，审核标准全文及编制说明的技术严谨性。

(4) 徐明明：负责临床场景与标准化规范指导，对标国标编制导则及国际先进标准，指导标准文本规范表述，审核术语定义、规范性引用文件等基础章节。

(5) 郭雨思：承担标准正文核心章节撰写，细化细胞周期同步化操作流程、试验条件与评价方法，协助完成标准草案修订与内容完善。

(6) 柴媛：负责项目进度跟踪、会议组织与纪要整理，协调工作组内外部沟通，保障编制工作高效推进。

(7) 游富平：负责标准验证完善阶段工作，设计细胞周期同步化及纳米颗粒毒性验证试验方案，组织开展验证实施，汇总分析验证数据，支撑标准条款的科学性与可操作性。

(8) 孟幻：承担验证试验具体执行，负责细胞周期同步化操作、数据采集与原始记录整理，协助撰写验证分析报告，参与标准草案修订完善。

(9) 刘颖：负责验证完善工作，验证材料归档、验证结果复核与数据统计分析，跟踪验证问题整改闭环，协助处理编制过程中的技术反馈意见。

(10) 江瑞宁：负责标准征求意见稿、编制说明等文本的初审与校对，整理起草过程相关文件，辅助完成标准报批材料的整理与报送。

(11) 张金：协助完成资料收集、文稿校对、验证辅助及综合事务保障，配合完成标准报批材料整理。

二、国家标准化指导性技术文件编制原则、主要内容及其确定依据

(一) 编制原则

遵循标准化工作导则：严格按照 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》的规定起草标准全文，保证标准结构规范、表述严谨。与现有标准协调衔接：全面遵循医疗器械生物学评价系列国家标准（如 GB/T 16886 系列）的核心要求，引用相关通用检测方法，与现有行业标准无冲突。同时兼顾行业发展与国际接轨：参考 ISO 7405、ISO/TR 10993-22 等国际先进标准的理念，结合我国口腔医疗器械产业的发展实际，制定符合国内需求且与国际接轨的技术要求。

(二) 编制依据

遵循《医疗器械监督管理条例》相关要求，引用 GB/T 16886.1-2022《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》、GB/T 16886.5-2017《医疗器械生物学评价 第 5 部分：体外细胞毒性试验》、GB/T 16886.12-2023《医疗器械生物学评价 第 12 部分：样品制备与参照材料》等国家标准，同时参考 YY/T 0993-2015《医疗器械生物学评价 纳米材料：体外细胞毒性试验（MTT 试验和 LDH 试验）》的专项技术要求。

(三) 主要内容

本文件包含范围、规范性引用文件、术语与定义、缩略语、原理、仪器与试剂、试验方法、试验过程、数据记录与分析、接受准则、结果评定，共 11 个章节。

1、范围

明确本标准适用于口腔纳米医疗器械和存在纳米颗粒脱落 / 释放可能的口腔医疗器械的体外细胞毒性评价，同时规定了不适用于不含纳米颗粒或无脱落 / 释放可能的口腔医疗器械，界定了标准的适用边界。

2、术语与定义

界定了“纳米颗粒”“细胞周期同步化”两个核心术语。

3、原理

阐述了基于细胞周期阶段对纳米颗粒的敏感性差异，通过化学手段实现细胞周期同步化，结合 MTT 法检测纳米颗粒对同步化细胞的代谢活性、增殖能力影响，定量评价其体外细胞毒性的核心原理。

4、仪器与试剂

详细列明了试验所需的仪器(如酶标仪、流式细胞仪、CO₂ 细胞培养箱等)、试剂(如 MTT、PI 染色液、细胞培养液等)及耗材(如 96 孔细胞培养板、流式细胞术配套耗材等),明确了各类试验用品的基本要求。

5、试验方法

方法核心检测采用 GB/T 16886.5—2017 推荐的 MTT 法,通过检测活细胞线粒体对 MTT 的还原反应,定量评价纳米颗粒对细胞的毒性作用。细胞系优先选用该标准指定的 L929 细胞,同时结合口腔临床场景及纳米材料体内分布特点,细胞需处于对数生长期且初始活力不低于 90%。培养液规范遵循细胞培养通用技术规范、GB/T 16886 系列标准及相关文献,满足选定细胞系生长要求。针对纳米颗粒的光学检测干扰,参考纳米医疗器械评价指南及前期研究,设置无细胞加样对照组扣除背景干扰。试验质量控制要求引自 GB/T 16886.5—2017,同时明确细胞接种、培养及 MTT 法操作的具体流程,包括加样、孵育、结晶溶解、吸光度检测等关键步骤,确保试验结果的可靠性、有效性与可比性。

6、试验过程

试验过程划分为样品准备、细胞接种与培养、细胞周期同步化模型建立、样品加样与暴露试验、检测五个环节,该框架参考了国内外纳米毒理学评价的通用流程,确保试验逻辑清晰、步骤可控,同时突出了本标准针对纳米颗粒及细胞周期特异性评价的核心特点。

(1) 样品浸提依据:样品浸提的原则、介质、条件等规定,直接引自 GB/T 16886.12—2017《医疗器械生物学评价 第 12 部分:样品制备与参照样品》,并结合口腔医疗器械的临床使用环境,细化了浸提介质(如细胞培养液、生理盐水等)、浸提温度(37℃±1℃)、浸提时间(24h、72h 等)的选择依据,以保证浸提液能有效模拟临床暴露场景。

(2) 细胞周期同步化依据:明确的 G₀/G₁ 期、S 期、G₂/M 期诱导方案及流式细胞术验证方法,主要依据为细胞生物学及细胞周期调控的经典研究文献,如血清饥饿法、胸腺嘧啶核苷双阻断法、等同步化手段的有效性 with 适用性。前期预实验及已发表的纳米毒理学研究,证实不同细胞周期阶段对纳米颗粒的敏感性存在显著差异,同步化处理可提高毒性评价的特异性。流式细胞术操作与结果判定参考了 ISO 13335 及相关技术指南。

(3) 样品加样与暴露依据:样品加样的浓度设置、干扰扣除要求,依据 GB/T 16886.5—2017 设置梯度浓度以评估毒性阈值。纳米颗粒可能对检测产生的颜色、散射干扰,通过设置无细胞加样对照组进行背景扣除,该方法参考了国内外纳米医疗器械评价指南及相关研究文献,确保检测结果的准确性。

(4) MTT 检测操作细节依据:MTT 检测的显色孵育、结晶溶解、吸光度检测等关键操作细节,遵循 GB/T 16886.5—2017 及 MTT 法的通用操作规范,包括 MTT 工作浓度、孵育时间、溶解液及检测波长等参数,以保证试验结果的重复性与可比性。

7、数据记录与分析

规定了试验数据的记录要求(重复孔设置、表格记录),给出了相对细胞活性的计算公式,明确了纳米材料原材料和医疗器械浸提液的不同数据分析方法(浓度 - 反应曲线、IC₅₀ 计算或直接报告平均值±标准偏差)。

8、接受准则

本部分试验质量控制要求依据 YY/T 0993-2015《医疗器械生物学评价 纳米材料:体外细胞毒性试验(MTT 试验和 LDH 试验)》进行制定。包括试验质量控制的两项核心要求(细胞增殖状态、阳性对照有效性),明确了细胞毒性的判定阈值(相对细胞活性<70% 判定为具有细胞毒性)及剂量 - 反应合理性要求,规定了试验结果有效与否的判定标准。

9、结果评定

提出了结合受试样品临床用途、接触性质的综合评价原则,重点强调了同步化模型下纳

米颗粒对特定细胞周期阶段的毒性差异分析，要求结合纳米材料理化特性进行关联性分析，并明确了具有细胞毒性时的进一步评估措施。

三、试验验证的分析、综述报告，技术经济论证，预期效益

为验证本标准方法的有效性、重现性、灵敏度及适用性，联合北京大学基础医学院、国家纳米科学中心共同开展验证试验，制定专项《国家标准验证实施方案》，选取存在纳米颗粒脱落 / 释放风险的口腔医疗器械材料开展验证试验。结果表明，试验系统稳定有效，方法重现性良好，可精准检测纳米颗粒对不同细胞周期阶段的毒性差异，灵敏度更高，且适配行业常规设备与操作流程，技术方案经济可行。

本标准的实施将填补口腔医疗器械纳米颗粒细胞毒性评价方法空白，统一检测要求，提升安全评估精准性，保障患者诊疗安全，为监管提供技术依据；同时为企业研发、检测提供指导，降低沟通成本，加速产品市场化，推动行业技术升级与高质量发展，增强我国在国际标准制定中的话语权。

四、与国际、国外同类标准技术内容的对比情况

目前国际上与医疗器械生物学评价相关的标准主要为 ISO 10993 系列（如 ISO/TR 10993-22《医疗器械生物学评价 第 22 部分：纳米材料指南》）、ISO 7405:2018《牙科学 牙科用医疗器械的生物相容性评价》，其中 ISO/TR 10993-22 仅对纳米材料的生物学评价提出通用指导原则，未规定具体的细胞周期同步化评价方法；ISO 7405 仅针对牙科医疗器械的生物相容性做出整体要求，未涉及纳米颗粒的专项细胞毒性评价。

国内方面，现行标准主要包括 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》、YY/T 0127.9《口腔医疗器械生物学评价 第 2 单元：试验方法 细胞毒性试验：琼脂扩散法及滤膜扩散法》、YY/T 0127.18《口腔医疗器械生物学评价 第 18 部分：牙本质屏障细胞毒性试验》等，上述标准均为通用或专项细胞毒性评价方法，未针对口腔医疗器械脱落/释放纳米颗粒的特点，建立细胞周期同步化的专属评价方法。

本标准在参考国际先进标准核心理念的基础上，结合我国口腔医疗器械产业发展实际，首次针对口腔医疗器械脱落 / 释放纳米颗粒的特点，建立了细胞周期同步化的体外细胞毒性评价方法，补充了国际标准的空白。

五、采用国际 / 国外标准的情况说明

本标准自主制定，未直接采标，但全面遵循了国际标准化组织的相关理念和通用要求，与国际先进标准的技术方向保持一致，为后续国际标准的制定提供了中国实践参考。

六、与有关法律、行政法规及相关标准的关系

本标准的编制严格遵循《医疗器械监督管理条例》《医疗器械标准管理办法》等法律法规的要求，符合国家药品监督管理局对医疗器械生物学评价、安全检测的监管规定，标准实施后将为法律法规的落地提供具体的技术支撑，助力医疗器械市场监管的科学化、规范化。同时与国内现有医疗器械相关标准无冲突、无重复，形成紧密的衔接互补关系。

本标准核心遵循 GB/T 16886 系列医疗器械生物学评价国家标准的通用要求，引用 GB/T 16886.1、GB/T 16886.5、GB/T 16886.12 的核心技术内容，在通用方法的基础上进行专项细化。标准参考 YY/T 0993-2015《医疗器械生物学评价 纳米材料：体外细胞毒性试验（MTT 试验和 LDH 试验）》的纳米材料检测要求，针对口腔医疗器械的特点优化了试验步骤和判定标准。

七、重大分歧意见的处理经过和依据

本标准暂无重大分歧意见

八、涉及专利的有关说明

本文件暂不涉及专利问题

九、实施国家标准化指导性技术文件的要求及措施建议

本标准为国家标准化指导性技术文件，由全国口腔材料和器械设备标准化技术委员会（SAC/TC 99）负责标准的解释工作，牵头组织标准的宣贯、实施和技术指导。

十、其他应当说明的事项

暂无。