



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1500—2016

医疗器械热原试验 单核细胞激活试验 人全血 ELISA 法

Pyrogen test for medical devices—Monocyte-activation test—
Human whole blood ELISA method

2016-07-29 发布

2017-06-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本标准是在参考了欧洲药典 7.0 单核细胞激活试验的基础上,结合医疗器械产品的特点制定。

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。

本标准由国家食品药品监督管理总局提出。

本标准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。

本标准起草单位:山东恒信检测技术开发中心、中国医学科学院输血研究所、上海松力生物技术有
限公司。

本标准主要起草人:范春光、王红、孙立魁、刘嘉馨、何红兵、吴旭君。

引 言

热原检测是医疗器械生物学安全评价中的重要项目。医疗器械热原反应主要分为内毒素介导的热原反应和非内毒素介导的热原反应。

致热原分为外致热原和内致热原。常见的致热原多为外致热原,外致热原进入人体后可激活体内单核细胞、巨噬细胞等,使其产生白细胞介素 1β (IL- 1β)、白细胞介素 6(IL-6)、肿瘤坏死因子 α (TNF α) 等内致热原。内致热原可通过血-脑屏障直接作用于体温调节中枢使体温调定点上移,机体产热增多,散热减少,从而引起发热。

单核细胞激活试验(MAT)用于对能激活人单核细胞或单个核细胞使其释放出诸如促炎性细胞因子、IL- 1β 、IL-6 和 TNF- α 之类的内源性介质的物质进行检测或定量。而这些细胞因子会导致发热性病症。因此,MAT 可检测出试验样本中存在的热原。本标准在附录 A 中给出了单核细胞激活试验指南。

2009 年,欧洲药典收录了体外热原检查法,美国 FDA 也接受了 5 种基于人免疫细胞的注射用药热原体外试验法。这些方法采用人全血、成分血或细胞系等为细胞源,检测其与受试物接触孵育后产生的 IL- 1β , IL-6 和 TNF- α 等内致热原。国际标准化组织技术委员会(ISO/TC 194)的 16 工作组一份文件表述到,IL-6、IL- 1β 的检测具有较高的信噪比,是较好的细胞因子热原标志物。本标准在附录 B 中给出了用于医疗器械热原检测的人全血 IL- 1β 法示例。

医疗器械热原试验 单核细胞激活试验 人全血 ELISA 法

1 范围

本标准给出了用人全血 ELISA 法测定医疗器械/材料中致热原的试验方法。

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 16886.12 医疗器械生物学评价 第 12 部分:样品制备与参照样品

3 概述

医疗器械/材料与人全血接触后,医疗器械/材料中所含的致热原激活血液中的单核细胞,被激活的单核细胞可产生内致热原,如 IL-1 β 、IL-6 和 TNF α 等。通过 ELISA 法测定接触后全血中内致热原的量,并将单核细胞对供试品的反应和对内毒素标准品的反应进行比较,间接反映出医疗器械/材料中所含的热原物质的量。

4 全血来源和质量要求

4.1 全血

全血应符合 4.2 和 4.3 要求的混合全血。

4.2 献血者的质量要求

献血者要在符合有关知情、健康、安全以及伦理相关强制性要求的前提下满足下列合格准则。供献血者要自述健康状况良好,并在献血前至少 1 周无细菌或病毒感症状。献血者在献血前 48 h 内没有服用过非甾体类抗炎药物,并在献血前 7 d 内没有服用甾体类抗炎药物。服用过免疫抑制剂或其他已知能影响读取对象的药物的人不宜作为献血者。献血应根据国家输血要求检验血液感染标志物。

4.3 混合全血的质量要求

混合全血应来自于至少 4 名献血者,如可行,最好是 8 名或更多献血者,从每一供血者取大约等体积的血液。质量要求如下:采血后 4 h 内,用其对标准内毒素几何稀释的至少 4 个浓度的内毒素溶液(如在 0.01 IU/mL~4 IU/mL 的浓度范围内)绘制剂量-反应曲线。该剂量-反应曲线应满足 7.2 中所述的标准曲线的 2 个准则。

5 器具

用一个确认过的过程在干热烤箱中将所有玻璃器具和其他耐热器具除热原。通常使用的时间和温