

YY

中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXXX—XXXX

抗人乳头瘤病毒（HPV）医用凝胶

Anti-Human Papillomavirus Medical Gel

（征求意见稿）

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

国家药品监督管理局 发布

前 言

本文件按照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。

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专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国避孕与妇产科器械标准化技术委员会（SAC/TC169）归口。

本文件起草单位：上海市医疗器械检验研究院、湖南省药品检验检测研究院、山西锦波生物医药股份有限公司、复旦大学、浙江省医疗器械检验研究院、中国药品检定研究院、上海市医疗器械化妆品审评核查中心、青海省药品审评核查中心、湖南思恩腾生物医药有限公司、湖南巴德医药科技有限公司、长沙海润生物技术有限公司、青海创铭医疗器械有限公司、湖南银华棠医药科技有限公司、利洁时（中国）投资有限公司。

本文件主要起草人：颜文涛、颜敏、王建、王茜、鲍娇慧、段晓杰、花晨、吉蓉、姚瑶、阮卫红、罗豪杰、姜志华、闫朋珍、李海航、何海红、牛雯、孙开峰。

抗人乳头瘤病毒（HPV）医用凝胶

1 范围

本文件规定了抗人乳头瘤病毒（以下简称HPV）医用凝胶的结构与组成、要求、试验方法、标志和包装。

本文件适用于降低局部人乳头瘤病毒载量的医用凝胶。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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（所有部分）医疗器械生物学评价

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

YY/T 0466.1 医疗器械 用于制造商提供信息的符号 第1部分：通用要求

YY/T 1943 医疗器械唯一标识的包装实施和应用

中华人民共和国药典 2025年版 四部

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

人乳头瘤病毒 Human Papillomavirus; HPV

一种无包膜DNA病毒，属于乳头瘤病毒科乳头瘤病毒属。

3.2

病毒阻隔率 Virus Blocking Rate

病毒感染过程中，病毒被阻止或减缓感染的程度，通常以百分比的形式表示。

4 结构组成

抗HPV医用凝胶主要由医用凝胶和/或给凝胶装置组成。

医用凝胶由具有非药理作用降低HPV载量的有效成分（如酸酐化牛 β -乳球蛋白等）、凝胶基质和附加剂组成。

给凝胶装置（如有）通常为推注器或其他型式。

5 要求

5.1 外观

医用凝胶应为具有凝胶特性的稠厚液体或半固体，性状均匀、细腻，无任何肉眼可见异物。

5.2 给凝胶装置（若有）

给凝胶装置应洁净无异物，外表光滑、无毛边、毛刺、缺损等任何影响使用的缺陷。

给凝胶装置应推注顺畅，凝胶残留量应不超过实际装量的10%。

5.3 装量

医用凝胶装量应符合表1的要求。

表 1 医用凝胶的装量要求

标示装量	平均装量	每个容器装量
20g (mL) 以下	不少于标示装量	不少于标示装量的93%
20g (mL) 至50g (mL)	不少于标示装量	不少于标示装量的95%
50g (mL) 以上	不少于标示装量	不少于标示装量的97%

5.4 有效成分含量

医用凝胶有效成分应符合其标示含量及允许偏差范围。

5.5 动力黏度

医用凝胶动力黏度值应在制造商规定黏度范围内。

5.6 pH 值

医用凝胶pH值应在3.8~5.5范围内。

5.7 重金属

医用凝胶重金属总量（以铅计）应 $\leq 10 \mu\text{g/g}$ 。

5.8 微生物限度

以非无菌形式提供的医用凝胶，需氧菌总数应 $\leq 10^2 \text{cfu/g}$ （ cfu/mL ），霉菌和酵母菌总数应 $\leq 10^1 \text{cfu/g}$ （ cfu/mL ），金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和白色念珠菌每1g（1mL）应不得检出。

5.9 无菌

以无菌形式提供的抗HPV医用凝胶，应无菌。

注：无菌检查常用于监督抽检，不能替代灭菌过程的开发、确认和常规控制用于产品放行。

5.10 病毒阻隔率（HPV 假病毒）

最高受试浓度细胞相对存活率 $\geq 90\%$ 时，医用凝胶病毒阻隔率应 $\geq 90\%$ 。

5.11 生物学评价

抗HPV医用凝胶应无不可接受的生物学危害。

6 试验方法

6.1 外观

用正常视力或矫正视力观察，判定结果是否符合5.1的要求。

6.2 给凝胶装置（如有）

用正常视力或矫正视力观察后，取5支样品，打开初包装，用电子天平称取给凝胶装置和凝胶的质量记为 m_1 。推动给凝胶装置至底端，将凝胶排出，再次称量给凝胶装置的质量记为 m_2 。洗净给凝胶装置并干燥后称量质量记为 m_3 。按式（1）计算凝胶残留量，判定结果是否符合5.2的要求。

$$\text{凝胶残留量} = \frac{m_2 - m_3}{m_1 - m_3} \times 100\% \quad (1)$$

式中：

m_1 ——给凝胶装置和凝胶的质量，单位为克（g）；

m_2 ——排出凝胶后给凝胶装置的质量，单位为克（g）；

m_3 ——洗净给凝胶装置并干燥后的质量，单位为克（g）。

6.3 装量

按照《中华人民共和国药典》2025年版 四部 通则 0942 最低装量检查法进行试验，判定结果是否符合5.3的要求。

6.4 有效成分含量

有效成分含量的测定由制造商提供经验证的方法进行试验，判定结果是否符合5.4的要求。

注：酸酐化牛 β -乳球蛋白的试验方法参见附录A。

6.5 动力黏度

按照《中华人民共和国药典》2025年版 四部 通则 0633 黏度测定法 第一法平氏毛细管黏度计测定法或第三法旋转黏度计测定法进行，判定结果是否符合5.5的要求。

6.6 pH 值

取1g医用凝胶，加入符合GB/T 6682中的二级水10mL稀释混匀后，按照《中华人民共和国药典》2025年版 四部 通则 0631 pH值测定法进行试验，判定结果是否符合5.6的要求。

6.7 重金属

取1g供试医用凝胶，按照《中华人民共和国药典》2025年版 四部 通则 0821 重金属检查法第二法进行试验，判定结果是否符合5.7的要求。

6.8 微生物限度

取供试样品（至少随机抽取2个最小包装，混取医用凝胶不少于10g），用适宜的方法制备供试液，按照《中华人民共和国药典》2025年版 四部 通则 1105 非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法和1106 非无菌产品微生物限度检查：控制菌检查法进行试验，判定结果是否符合5.8的要求。

6.9 无菌

按照《中华人民共和国药典》2025年版 四部 通则 1101 无菌检查法进行试验，判定结果是否符合5.9的要求。

6.10 病毒阻隔率（HPV 假病毒）

按照附录B的方法进行试验，判定结果是否符合5.10的要求。

6.11 生物学评价

按照GB/T 16886系列标准规定的方法进行，判定结果是否符合5.11的要求。

7 标志

7.1 通则

医疗器械标签、包装标识所使用的符号应符合YY/T 0466.1《医疗器械 用于制造商提供信息的符号 第1部分：通用要求》的规定。

医疗器械唯一标识（UDI）的实施应符合YY/T 1943《医疗器械唯一标识的包装实施和应用》的规定。

标志应清晰、耐久，在规定的运输、贮存和使用条件下保持完整和易读。

标志所载信息应与经注册/备案的说明书及产品技术要求保持一致。

7.2 单包装

单包装上应至少标有下列信息：

a) 产品名称、型号规格、装量；

- b) 制造商名称及生产地址；
- c) 生产批号；
- d) 生产日期、使用期限或者失效日期；
- e) 如为灭菌产品，应有灭菌标志，并注明灭菌方式；
- f) “一次性使用”“包装破损禁止使用”等字样或图示（如适用）；
- g) 注明“其他内容详见说明书”。

7.3 货架包装

货架包装上应至少标有下列信息：

- a) 产品名称、型号规格；
- b) 制造商名称及生产地址；
- c) 生产批号；
- d) 生产日期、使用期限或者失效日期；
- e) 无菌及灭菌方式（如适用）；
- f) 包装内最小销售单元的数量；
- g) 运输和贮存条件说明。

8 包装

抗HPV医用凝胶最小包装优先采用使用式初包装设计，通常为一次性使用初包装，如：给凝胶装置等。

对于无菌提供的抗HPV医用凝胶，制造商应提供装入抗HPV凝胶后的包装符合GB/T 19633.1要求的证明。

对于无菌提供的抗HPV医用凝胶，单包装的设计应便于内装物无菌取用，包装开启后应留有打开过的痕迹。

附 录 A (资料性) 蛋白质含量的测定

A.1 原理

本法系依据蛋白质为含氮的有机化合物,当与硫酸和硫酸铜、硫酸钾一同加热消化时使蛋白质分解,分解的氮与硫酸结合生成硫酸铵。然后碱化蒸馏使氮游离,用硼酸液吸收后以硫酸滴定液滴定,根据酸的消耗量算出含氮量,再将含氮量乘以换算系数,即为蛋白质的含量。

A.2 仪器和试液

A.2.1 仪器:凯氏定氮仪、电子天平。

A.2.2 试液:硫酸、硫酸钾、硫酸铜。

A.2.2.1 硫酸滴定液(0.05mol/L):按《中华人民共和国药典》(2025年版)第四部8006滴定液中方法进行配制和标定。

A.2.2.2 硫酸滴定液(0.005mol/L):精密量取硫酸滴定液(0.05mol/L)100mL,置于1000mL量瓶中,加水稀释至刻度,摇匀。

A.2.2.3 碱液(40%氢氧化钠溶液):取氢氧化钠400g,加水使溶解成1000mL,即得。

A.2.2.4 吸收液(含甲基红-溴甲酚绿混合指示液的硼酸溶液):按照《中华人民共和国药典》(2025年版)四部0704氮测定法或参考仪器说明书进行配制。

A.3 试验步骤

A.3.1 取供试品适量(相当于含氮量0.2mg~2.0mg),精密称定,置消化管中,在150℃预干燥30min,冷却。

A.3.2 依次加入4.5g硫酸钾、0.5g硫酸铜和15mL硫酸(可根据供试品用量适当调整试剂用量),将消化管放入消化仪中,按照仪器说明书的方法开始消解[可参考条件:150℃,30min;200℃,30min;280℃,30min;400℃,(60~80)min]至溶液呈澄明的绿色,再继续消化10min,取出,冷却。

A.3.3 将配制好的碱液、吸收液和滴定液分别置自动蒸馏仪相应的瓶中,按照仪器说明书的要求将已冷却的消化管装入正确位置,关上安全门,连接水源,设定好加入试剂的量(碱液加入体积至少为硫酸的4倍)、时间、清洗条件及其他仪器参数等,如为全自动定氮仪,即开始自动蒸馏和滴定。如为半自动定氮仪,则取馏出液照《中华人民共和国药典》(2025年版)第四部0704氮测定法二法滴定,测定氮的含量。

A.3.4 取等量供试品空白基质同法试验,作为空白。

注:若无凯氏定氮仪,可直接按《中华人民共和国药典》(2025年版)第四部0704氮测定法二法测定氮的含量。

A.4 结果计算

按式计算供试品中蛋白质的含量:

式(1):

$$N = \frac{C \times V \times 0.1401}{m \times 0.005 \times 1000} \times 100\% \quad (\text{A.1})$$

式(2):

$$M = (N_{\text{供试品}} - N_{\text{空白基质}}) \times K \quad (\text{A.2})$$

式中:

N ——供试品或空白基质中氮含量，单位为（%）；

C ——硫酸滴定液（0.005mol/L）的实际浓度，单位为摩尔每升（mol/L）；

V ——供试品或空白基质消耗硫酸滴定液的体积，单位为毫升（mL）；

m ——供试品或空白基质的取样量，单位为克（g）；

M ——供试品中蛋白质的含量，单位为（%）；

K ——氮转换为蛋白质的换算系数，一般为 6.25（可根据供试品中蛋白质酸酐化程度给出特定换算系数）

注：每1ml硫酸滴定液（0.005mol/L）相当于0.1401mg的氮。

附 录 B
（规范性）
病毒阻隔率（HPV 假病毒）的测定

B.1 试验原理

基于假病毒的检测法，是指采用人工制备的含相应HPV活病毒蛋白衣壳以及报告基因的复制缺陷型假病毒，模拟实测病毒感染过程，利用抗病毒凝胶对假病毒的阻隔作用，通过检测假病毒所携带报告基因的表达情况，检测供试品的对假病毒的阻隔作用的方法。

B.2 试验材料、培养基与试剂、仪器设备**B.2.1 试验材料****B.2.1.1 细胞系**

B.2.1.1.1 HeLa;

B.2.1.1.2 HEK293FT;

B.2.1.2 质粒

B.2.1.2.1 HPV 蛋白衣壳质粒：HPV16（p16sheLL）、HPV18（p18sheLL）或其他型别；

B.2.1.2.2 报告基因质粒：荧光素酶 pLucf 质粒。

B.2.2 培养基与试剂

细胞培养基与主要试剂如下：

- a) 培养基：Opti- MEM;DMEM
- b) 试剂：
 - 1) 胎牛血清（FBS）；
 - 2) Lip2000;
 - 3) Brij 58;
 - 4) 荧光素酶活性检测底物；
 - 5) 细胞裂解液；
 - 6) 青霉素-链霉素（PS）溶液；
 - 7) 磷酸盐缓冲液（PBS）；
 - 8) 细胞冻存液；
 - 9) 0.25%胰蛋白酶-乙二胺四乙酸（EDTA）溶液；
 - 10) 细胞计数试剂盒（CCK-8）；

所有试剂为无菌级或经无菌过滤处理。

B.2.3 仪器设备

主要仪器设备如下：

- a) 生物安全柜；
- b) 细胞培养箱：37℃，5%CO₂/空气；
- c) 倒置显微镜；
- d) 酶标仪等。

B.3 试验环境

涉及生物安全的操作，应在二级生物安全实验室内的生物安全柜中进行。

B.4 试验方法与步骤**B.4.1 HPV 假病毒包装与制备**

注：HPV假病毒可按如下方法制备或购买市售产品。

B.4.1.1 培养基

完全培养基：在DMEM中添加10%FBS、100IU/mL青霉素、100μg/mL链霉素。

B.4.1.2 细胞接种

将预先培养至近汇合状态的HEK293FT细胞用0.25%胰蛋白酶-EDTA消化、计数，用完全培养基重悬细胞悬液，调整细胞密度接种于细胞培养瓶，37℃、5% CO₂培养 16 h，至细胞汇合度约 70%、无污染、状态良好时进行转染。

B.4.1.3 转染体系配制

取 HPV 16或18等其他型别对应 L1/L2 质粒与 pCLucf 荧光素酶报告基因质粒各 12 μg，用 100 μL Opti-MEM 稀释，涡旋震荡 10 s 混匀；取 32 μL Lip2000 转染试剂，用 100 μL Opti-MEM 稀释，涡旋震荡 10 s 混匀，室温静置 5 min；将转染试剂稀释液逐滴加入质粒稀释液，涡旋震荡 15 s 混匀，37℃静置 30 min 以上，使转染复合物充分形成。

B.4.1.4 细胞转染

将转染复合物逐滴缓慢加入细胞培养液，轻轻混匀，37℃、5% CO₂培养 48 h。

B.4.1.5 假病毒收集

转染 48 h 后弃培养液，预冷 PBS 清洗细胞 2 次，胰酶消化后收集细胞悬液，室温 3000 rpm 离心 3 min，弃上清；用 3 mL DPBS 重悬沉淀，清洗后再次 3000 rpm 离心 3 min，弃上清；按细胞体积 1.4 倍量 DPBS 重悬于无菌硅化管，加入 1/20 体积 10% Brij 58 裂解液（0.22 μm 滤膜过滤除菌），混匀。

B.4.1.6 裂解与保存

裂解体系 37℃过夜孵育，次日冰浴 30 min，4℃、5000 rpm 离心 5 min，收集上清即为 HPV 假病毒液；分装后-80℃保存，避免反复冻融。

B.4.2 假病毒体外阻隔实验

B.4.2.1 样品预处理

称取凝胶样品，使用完全培养基稀释至每1mL约含100mg或适宜浓度，制备样品储液。

采用MTT法或CCK-8法测定抗 HPV 凝胶样品储液及稀释液对 HeLa 细胞的细胞毒性。GB/T 16886.5-2017附录C给出了MTT试验方法。CCK-8法可参照YY/T 1670.2-2025进行，测定吸光度（OD 450 nm），并计算细胞相对存活率（%）。当试验样品具有细胞毒性时，应选用最高受试浓度（细胞相对存活率≥90%）梯度稀释进行假病毒体外阻隔实验。

B.4.2.2 细胞接种

将预先培养至近汇合状态的HeLa细胞用0.25%胰蛋白酶消化、计数，用完全培养基重悬细胞悬液，调整密度为 1×10^6 个细胞/mL后接种于96孔细胞培养板。

96孔细胞培养板的外围孔中加入100 μL完全培养基，在其余孔中加入100 μL密度为 1×10^6 个细胞/mL的细胞悬液。

将96孔细胞培养板置于5%CO₂细胞培养箱内， $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ ，过夜培养至汇合度约 80%，贴壁牢固、状态均一。

B.4.2.3 样品、对照品和质控品的稀释及分组

对样品进行梯度稀释每一浓度点设置两个及以上复孔。每次试验均应设置空白对照组（仅加入细胞）和假病毒阳性对照组（加入细胞和假病毒）；同时采用质控品进行监测，以确保试验结果的准确性。分组如下：

样品组：靶细胞 + 样品 + HPV 假病毒

假病毒阳性对照组：靶细胞 + HPV 假病毒

空白对照组：靶细胞 + 培养基

将预处理后的不同分组样品与等量 HPV 假病毒混匀，加入预铺Hela靶细胞的96孔板中培养。

B.4.2.4 感染与孵育

每孔加入 100 μ L 混合液，轻轻混匀，37℃、5% CO₂孵育 16 h；弃上清，PBS 清洗 2 次，每孔加入 100 μ L 含 1% FBS 的 DMEM，继续培养至感染后 72 h。

B.4.2.5 发光信号检测

弃培养液，加细胞裂解液裂解细胞，按荧光素酶试剂盒操作，酶标仪检测 RLU 值，发光检测避光操作，取复孔平均值。

B.5 结果计算

B.5.1 阻隔率计算公式

按下式计算 HPV 假病毒阻隔率：

$$\text{HPV 假病毒阻隔率}(\%) = 100 - 100 \times \frac{\text{SR} - \text{BR}}{\text{PR} - \text{BR}} \quad (\text{B.1})$$

式中：

HPV假病毒阻隔率，%；

SR——样品组相对荧光值 Sample group RLU；

BR——空白对照组相对荧光值 Blank control group RLU；

PR——假病毒阳性对照组相对荧光值Pseudovirus positive control group RLU。

B.5.2 数据分析

实验数据采用统计学方法分析。应采用科学的、经过验证的方法进行50%抑制浓度（即 IC₅₀）计算，报告有效成分的半数有效浓度IC₅₀及阻隔率。

B.6 实验成立条件及复测原则

为了保障实验结果的准确、可比，应确定实验成立标准，如病毒对照与细胞对照的信号比值、病毒对照信号值范围、阳性质控品的合格区间等。假病毒阳性对照组 RLU > 1×10⁵；空白对照组 RLU < 8×10³，否则实验无效。实验的复测原则可包括逆梯度（检测结果倒置，即同一样本高稀释度感染抑制率大于或等于50%，而低稀释度感染抑制率小于50%）、平行复孔间抑制率差异超过30%、IC₅₀结果超过最高稀释度或低于最低稀释度等。

B.7 试验报告

试验报告应至少包括下列各项内容：

- 试验机构名称和地址；
- 试验操作者姓名；
- 试验开始和结束日期；
- 样品的描述；
- 细胞系选择和细胞来源说明；
- 介质、血清和抗生素（如添加）的批号和公司名称；
- 试验样品制备方法；
- 试验条件和试验步骤；
- 阴性、阳性和其他对照品；
- 细胞反应和其他观察情况；
- 结果评定所需的任何其他相关数据。

参 考 文 献

- [1] YY/T 1670.2-2025 医疗器械神经毒性评价 第2部分：神经细胞毒性试验
 - [2] 中华人民共和国药典 2025 版 四部 通则 9407 基于假病毒的中和抗体检测法指导原则
-