



180015144061



中国认可
国际互认
检测
TESTING
CNAS L2954

最终报告

报告编号：SDWH-M202003427-1

非邻苯医用聚氯乙烯材料 细胞毒性试验

参照 ISO 10993-5: 2009

MTT

含 10%胎牛血清的 MEM 浸提

委托单位： 广东银禧科技股份有限公司

地 址： 东莞市虎门镇居岐村



苏州大学卫生与环境技术研究所

地址：中国江苏苏州工业园区仁爱路 199 号

网址：www.sudatest.com

直线：+86 512 65880038

邮编：215123

电子邮箱：med@sudatest.com

免费电话：400 107 8828

目录

检测报告说明	3
质量保证声明	4
GLP 符合声明	5
日期确认	5
报告摘要	6
检测报告正文	7
1 目的	7
2 参考标准	7
3 执行规范	7
4 试验和对照样品确定	7
4.1 试验样品	7
4.2 对照样品	7
4.2.1 阴性对照样品	7
4.2.2 阳性对照样品	8
4.2.3 空白对照	8
5 仪器和试剂	8
5.1 仪器设备	8
5.2 试剂	8
6 试验系统鉴别	8
7 试验系统和给药途径确认	9
8 试验设计	9
8.1 浸提液制备	9
8.1.1 样品前处理	9
8.1.2 样品浸提	9
8.2 试验步骤	9
8.3 结果	9
8.4 质量检查	10
8.5 数据分析	10
8.6 评价标准	10
9 结论	10
10 记录存储	10
11 保密协议	10
12 试验偏离声明	10
附录一 结果	11
附录二 试验样品照片	12
附录三 客户提供的资料	13

检测报告说明

- 一、对本报告有异议者，请于收到报告之日起十五天内提出复核申请。
- 二、检测报告涂改或无检验检测专用章无效。
- 三、检测报告无编制人、审核人及检测报告签发人签字无效。
- 四、送样委托检验，本检验检测机构仅对来样负责。
- 五、未经本检验检测机构同意，不得部分复制本报告。

质量保证声明

质量办公室对本试验的检查/审核遵循了如下 GLP 法规：

美国食品药品监督管理局（FDA）良好实验室规范（GLP）法规 21 CFR 第 58 部分；豁免执行的条款为：21 CFR 条款 58.105 和 58.113，样品鉴定和样品与载体的混合物的稳定性。

质量办公室负责检查试验过程，检查日期见下表，并报告试验负责人和试验机构负责人。

质量办公室对最终报告进行审核，报告中的方法符合标准操作规程要求，结果与根据试验计划书进行的非临床试验研究的原始数据一致。

监督	监督日期	报告试验负责人日期	报告试验机构负责人日期
试验计划书	2020-07-03	2020-07-03	2020-07-28
试验过程	2020-07-09	2020-07-09	2020-07-28
原始数据	2020-07-28	2020-07-28	2020-07-28
最终报告	2020-07-28	2020-07-28	2020-07-28

质量办公室：

欧婷婷

2020-07-28

质量保证人员

日期

GLP 符合声明

本试验完全符合试验计划书的技术要求。

本试验按照美国食品药品监督管理局 (FDA) 良好实验室规范 (GLP) 法规 21 CFR 第 58 部分的规定进行。

本实验室豁免执行以下条款: 21 CFR 第 58.105 条样品与对照品的鉴定, 以及第 58.113 条样品与载体混合物。

日期确认

接样日期	2020-07-01
试验计划书生效日期	2020-07-03
试验操作开始日期	2020-07-03
试验操作结束日期	2020-07-10
报告完成日期	2020-07-29

编制: 王德衡 2020-07-26

日期

审核: 张利娜 2020-07-29

日期

签发: 丁明浩 2020-07-29

日期

授权签字人

苏州大学卫生与环境技术研究所



报告摘要

1 试验样品

样品名称	非邻苯医用聚氯乙烯材料
制造商	广东银禧科技股份有限公司
地址	东莞市虎门镇居岐村
型号	未提供
批号	2020-6-23

2 主要参考标准

ISO 10993-5: 2009 医疗器械生物学评价 第 5 部分：体外细胞毒性试验

3 试验方法

依据 ISO 10993-5: 2009 医疗器械生物学评价 第 5 部分：体外细胞毒性试验，采用 MTT 法，评价样品潜在的细胞毒性。

试验计划书编号：SDWH-PROTOCOL-GLP-M202003427-1。

4 结论

在本次试验条件下，试验样品的浸提液对 L929 细胞无潜在毒性影响。

检测报告正文

1 目的

该试验目的是为了评价试验样品对 L929 哺乳动物成纤维细胞的生物学反应。该测试是根据样品浸提液而设计的。

2 参考标准

ISO 10993-5: 2009 医疗器械生物学评价 第 5 部分：体外细胞毒性试验

ISO 10993-12:2012 医疗器械生物学评价 第 12 部分：样品制备与参照材料

3 执行规范

美国食品药品监督管理局《非临床研究实验室的良好实验室规范》21 CFR 58 部分。

ISO/IEC 17025:2017 检测和校准实验室能力的通用要求 (CNAS—CL01《检测和校准实验室能力认可准则》) 中国合格评定国家认可委员会 实验室认可 注册号：CNAS L2954。

RB/T 214—2017《检验检测机构资质认定能力评价 检验检测机构通用要求》中国国家认证认可监督管理委员会 检验检测机构资质认定 证书编号：CMA 180015144061。

4 试验和对照样品确定

4.1 试验样品

样品名称	非邻苯医用聚氯乙烯材料
制造商	广东银禧科技股份有限公司
制造商地址	东莞市虎门镇居岐村
来样原始状态	未灭菌
CAS 编号	未提供
型号	未提供
规格	未提供
批号	2020-6-23
样品材料	聚氯乙烯
包装材质	PE 袋
性状	固体
颜色	未提供
密度	未提供
稳定性	未提供
溶解度	未提供
保存条件	室温
预期临床用途	未提供

试验样品信息是由样品委托单位提供。

委托单位负责遵守 GLP 试验有关样品的相关规定。

4.2 对照样品

4.2.1 阴性对照样品

名称：高密度聚乙烯

制造商：美国药典委员会

规格：3 片装

批号：K0M357

性状: 固体
 颜色: 白色
 稳定性: 室温下稳定
 保存条件: 室温
 浸提介质: 含 10% 胎牛血清的 MEM 培养液

4.2.2 阳性对照样品

阳性对照样品名称: Zinc diethyldithiocarbamate
 制造商: Sigma
 规格: 25 g
 批号: MKCB2943V
 浓度: 1%
 溶剂: 10% 胎牛血清的 MEM 培养液
 性状: 固体
 颜色: 白色

4.2.3 空白对照

空白对照样品名称: 含 10% 胎牛血清的 MEM 培养液
 性状: 液体
 颜色: 粉红色
 保存条件: 4 ± 2 °C

5 仪器和试剂

5.1 仪器设备

仪器名称	仪器编号	校正有效期
高压灭菌器	SDWH2204	2021-03-25
恒温摇床	SDWH2109	2020-10-28
钢直尺	SDWH463	2020-07-29
电子天平	SDWH2601	2021-05-21
电子天平	SDWH230	2021-04-25
CO ₂ 培养箱	SDWH021	2021-03-25
倒置显微镜	SDWH037	2021-04-25
超净工作台	SDWH454	2021-04-26
酶联免疫检测仪	SDWH2386	2021-05-17

5.2 试剂

试剂名称	供应商	批号
MTT(3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐)	SIGMA	MKCD8033
胎牛血清	CORNING	35081006
MEM	HyClone	AF29479404
胰酶	GiBco	1981725
青霉素链霉素	GiBco	2086794
PBS	GiBco	8119427
99.9% 异丙醇	国药集团化学试剂有限公司	20191104

6 试验系统鉴别

该试验用小鼠成纤维细胞 L929, 细胞系来自美国菌种保存中心。

7 试验系统和给药途径确认

小鼠成纤维细胞 L929 用来检测细胞毒性试验是因为其对试验样品浸提液反应灵敏。

试验样品通过浸提液(用一种与试验系统相容的载体浸提)与试验系统接触,被认为是最佳给药途径,也是为标准推荐的。

8 试验设计

8.1 浸提液制备

8.1.1 样品前处理

8.1.1.1 试验样品灭菌

高压蒸汽灭菌 121° C for 30 min。

8.1.1.2 对照样品灭菌

与试验样品相同。

8.1.2 样品浸提

无菌条件下取样,随机取样,并按下表的浸提比例(样品:浸提介质)在密闭的惰性容器内震荡浸提。浸提介质为含 10%胎牛血清的 MEM 培养液。浸提完成后,记录浸提液状态和浸提介质的任何变化(提取前和提取后)。提取液立即用于测试。

试验阶段	实际取样	浸提过程			最终浸提液
		浸提比例	浸提介质体积	浸提条件	
试验样品	2.4 g	0.2 g:1 mL	12.0 mL	37°C, 24 h	澄清
阴性对照	30 cm ²	3 cm ² :1 mL	10.0 mL	37°C, 24 h	澄清
空白对照	/	/	10.0 mL	37°C, 24 h	澄清
阳性对照	0.5 g	1.0 g:100 mL	50.0 ml	37°C, 24 h	浑浊

浸提前后浸提液状态未发生改变。浸提液 pH 值未经调整,未过滤、离心、稀释等处理。阳性浸提液经过滤后使用

8.2 试验步骤

试验过程无菌操作;

将 L929 细胞培养在含 10%胎牛血清和抗生素(青霉素 100 U/mL,链霉素 100 µg/mL)的 MEM 培养液中,置于 37°C, 5% CO₂ 培养箱中培养。用 0.25%胰酶(含 EDTA)消化细胞制备成单细胞悬液,细胞悬液离心(200 G,3 min),然后将细胞重新分散于培养基中,调整细胞密度为 1×10⁵ 个/mL 的细胞悬液;

接种上述细胞悬液到 1 个 96 孔培养板中,每孔 100 µL,置 37°C 培养箱中(5% CO₂, 37°C, >90%湿度)培养 24 h;

待细胞长成单层后,吸出原来的培养液,分别加入 100 µL 不同浓度的试验样品浸提液(100%、75%、50%、25%)、空白对照液、阳性对照(100%)和阴性对照液(100%), 37°C, 5% CO₂ 培养 24 h。每组做 5 个平行样;

培养 24 h 后,取出 96 孔板先做细胞形态学观察,然后吸出原来的培养液,每孔加 50 µL MTT (1mg/mL),置于 37° C, 5% CO₂ 培养箱中培养 2 h,吸弃上清,加 100 µL 99.9%纯度的异丙醇溶解结晶;

在酶标仪上以 570 nm 为主吸收波长,650 nm 为参考波长测定吸光度值。

8.3 结果

试验样品的 100%浸提液组细胞活力值为 80.4%,具体结果详见附录一,表 1,表 2。

8.4 质量检查

阴性对照无细胞毒性影响, 阳性对照造成细胞毒性影响。

在两天的试验过程中, 未经处理的空白对照的光密度绝对值 OD_{570} 表明了每个孔接种的 1×10^4 个细胞以正常倍增时间成指数增长。

空白对照的 OD_{570} 平均值不能小于 0.2。

检查系统的细胞接种误差, 96 孔板的左侧 (第 2 列) 和右侧 (第 11 列) 作为空白对照 (第 1 列和第 12 列不用作空白对照)。左右两侧空白对照的平均值不能与所有空白的平均值相差超过 15 %。

8.5 数据分析

使用 SPSS 16.0 计算各组测定的光密度值的均数 \pm 标准差(Mean \pm SD)。

$$\text{细胞活力 (\%)} = 100 \times \frac{(OD_{570} - OD_{650})_{\text{样品组}}}{(OD_{570} - OD_{650})_{\text{空白对照组}}}$$

50%浓度的样品浸提液与 100%浓度的样品浸提液相比, 细胞活力%应至少相同或更高, 否则应重复试验。

细胞活力%越低, 表明受试样品潜在的细胞毒性越大。

8.6 评价标准

50%的样品浸提液至少和 100%的细胞活力相同或者比 100%的细胞活力更高, 否则应该重复试验。

细胞活力%越低, 潜在的细胞毒性越大;

细胞活力 < 空白组 70%, 说明样品具有潜在的细胞毒性;

100% 试验样品浸提液的细胞活力%为最终结果。

9 结论

在本试验条件下, 试验样品的浸提液对 L929 细胞无潜在毒性影响。

10 记录存储

所有与本次试验有关的原始数据和记录都被保存在指定的 SDWH 档案文件中。

11 保密协议

签订检测委托合同即认为双方接受保密协议。

12 试验偏离声明

本次试验严格按照计划书执行, 未发生影响实验数据有效性的偏离。

附录一 结果

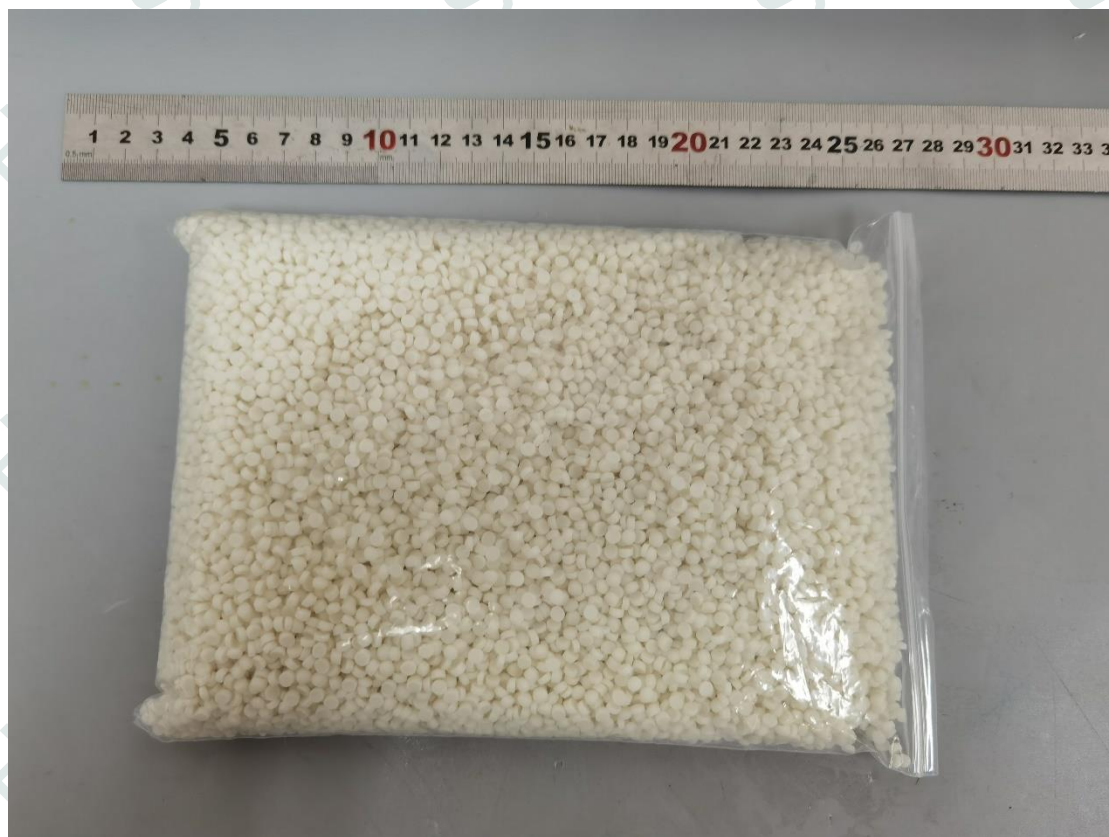
表 1 细胞形态学观察

组别	接种细胞后	加浸提液前	加浸提液 24 h 后
空白对照		个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。	个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。
阴性对照	个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。	个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。	个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。
阳性对照		细胞裂解死亡。	
100%样品浸提液		个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。	个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。
75%样品浸提液		个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。	个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。
50%样品浸提液		个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。	个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。
25%样品浸提液		个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。	个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。

表 2 细胞活力%

组别	吸光度值 Mean±SD	细胞活力%
空白对照	0.8469±0.055	100.0
阴性对照	0.8470±0.016	100.0
阳性对照	0.1992±0.006	23.5
100%样品浸提液	0.6812±0.015	80.4
75%样品浸提液	0.7412±0.018	87.5
50%样品浸提液	0.8250±0.018	97.4
25%样品浸提液	0.8518±0.012	100.6

附录二 试验样品照片



附录三 客户提供的资料

1 工艺流程

未提供。

2 其他信息

未提供。

以下空白