



201719010867



中国认可
国际互认
检测
TESTING
CNAS L3428

检 验 报 告

报告编号: DY18030137

产品名称: 硅橡胶

规格型号: BD-651

委托单位: 杭州包尔得新材料科技有限公司

检验类别: 委托检验

检验单位:

东莞标检产品检测有限公司

报告日期:

2018 年 04 月 08 日



东莞标检产品检测有限公司

地址: 广东省东莞市大朗镇富民南路 68 号

电话: 0769-8111 9888

传真: 0769-8111 6222

邮件: dgstc@stc.group

网址: www.stc.group



检 验 报 告			
样品名称	硅橡胶	规格型号	BD-651
商 标	未提供	样品批号	20180120
质量等级	未提供	样品状态	包装完好
样品特性	未提供	样品数量	1 个
生产日期	未提供	保质期限	未提供
委托单位及地址	杭州包尔得新材料科技有限公司 杭州市下沙经济技术开发区 5 号大街 188 号		
送检单位及地址	杭州包尔得新材料科技有限公司 杭州市下沙经济技术开发区 5 号大街 188 号		
生产单位	杭州包尔得新材料科技有限公司		
送样日期	-	送 样 人	-
接收日期	2018-03-08	检验日期	2018-03-18~2018-03-21
检验环境	见检验数据	检验地点	东莞标检产品检测有限公司医疗器械部
客户要求	检测细胞毒性		
检验依据	本次测试遵照《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》		
检验项目	细胞毒性		
检验结论	实验过程中,测试样品 MEM 浸提液均对 L929 小鼠成纤维细胞不具有细胞毒性的倾向性。		
备注			
主检人:	审核:	批准:	
卢润发	陶建夫	唐清华 (研究总监)	





检 验 数 据

測試結果:

目录

页 码

1. 简介	
2. 测试样品和对照样品确认	
3. 测试系统	
4. 方法	
5. 评价和统计分析	
6. 结果	
7. 结论	
8. 记录	
9. ISO符合声明	
10. 参考文献	
附录1 - 测试样品照片	



概要

本测试是遵照《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》, 检测硅橡胶的潜在细胞毒性。将测试样品、阴性对照品、阳性对照品置于无血清 MEM 培养基里 37℃ 浸提 24 小时。然后把样品浸提液稀释成一定的浓度 (100%、50%、25% 和 12.5%)。L929 成纤维单层细胞养成后, 吸出原来的培养液, 分别给以不同浓度的浸提液和稀释液, 在 37℃, 5% 二氧化碳培养箱中培养 24-26 小时。然后去除培养基, 加入 MTT (3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐) 溶液, 继续培养 2 小时。最后移去 MTT 溶液, 加入异丙醇进行溶解。测试样品的细胞活力根据与空白对照比较得到。活细胞减少会导致测试样品中代谢活动减少。这减少又直接与蓝紫色结晶甲臞形成相关, 这一变化能在 570nm 波长处测定其吸光度的改变。

测试样品进行三个平行重复试验。

实验过程中, 测试样品浸提液 100% 的细胞活性大于 70%, 测试样品浸提液对 L929 小鼠成纤维细胞没有细胞毒性的倾向性。



1. 简介

1.1 目的

本次测试目的是评价硅橡胶的潜在细胞毒性。

1.2 测试指导原则

本次测试遵照《ISO 10993-5:2009 医疗器械生物学评价 第 5 部分: 外细胞毒性试验》

1.3 日期

测试样品接受日期: 2018.03.08

测试开始: 2018.03.18

观察结束: 2018.03.21

2. 测试样品和对照样品确认

测试样品由客户提供, 标识如下:

表格 1: 测试样品

名称:	硅橡胶
型号:	未提供
批号:	20180120
强度, 纯度和组分:	硅橡胶
包装材料:	-
测试样品物理描述:	固体
颜色:	无色
储存条件:	室温



表格 2: 阴性对照样品

名称:	高密度聚乙烯
来源:	Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center
组成:	聚乙烯
批号:	C-141

表格 3: 阳性对照样品

名称:	ZDEC
来源:	Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center
组成:	0.1%ZDEC 聚乙烯薄片
批号:	A-152K

名称:	ZDBC
来源:	Hatano Research Institute, Food and Drug Safety Center
组成:	0.25%ZDBC 聚乙烯薄片
批号:	B-161K

表格 4: 辅助材料

生长培养基:	10%胎牛血清和抗生素(青霉素 100U/mL,链霉素 100 ug / mL) 的 MEM 培养基。
--------	---

3. 测试系统

3.1 测试系统和测试系统选择理由

由 L- 929 小鼠成纤维细胞(ECACC CAT# 85103115,或等效源)组成的哺乳动物单层细胞作为测试系统。体外哺乳动物细胞培养以及利用体外哺乳细胞进行生物材料和医疗器械细胞毒性评价的研究已经有相当长的历史。

3.2 测试系统管理

将 L-929 细胞培养在含 10%胎牛血清和抗生素(青霉素 100U/mL,链霉



素 100ug/mL) 的 MEM 培养液中, 置于 37°C, 5% CO₂ 培养箱中培养, 在测试中, 标记细胞代数和日期。培养获得得单层融合细胞为测试所使用。根据 STC 批准的 SOP, 整个细胞培养试验过程使用无菌操作技术。

4. 方法

4.1 测试样品准备

测试样品、阴性对照、阳性对照和空白对照按表 5 描述的条件进行浸提。浸提液会在浸提过程中持续摇晃。

表格 6: 浸提

样品	浸提比率	样品量	浸提液量	浸提条件
测试样品	3 cm ² :1 mL	36 cm ²	12 mL	37°C for 24 hours
阴性对照	3 cm ² :1 mL	18 cm ²	6 mL	37°C for 24 hours
ZDEC	3 cm ² :1 mL	18 cm ²	6 mL	37°C for 24 hours
ZDBC	6 cm ² :1 mL	36 cm ²	6 mL	37°C for 24 hours
空白对照	不适用	不适用	10.00 mL	37°C for 24 hours

接下来的表格包含了测试和对照样品浸提前后的状态



表格 7: 浸提液状态

浸提溶 液	观察点	浸提液	浸提液状态		
			颜色	透明度	颗粒
MEM 培 养基	浸提前	测试样品	粉红	清澈	无
		阴性对照	粉红	清澈	无
		ZDEC	粉红	清澈	无
		ZDBC	粉红	清澈	无
	浸提后	空白对照	粉红	清澈	无
		测试样品	粉红	清澈	无
		阴性对照	粉红	清澈	无
		ZDEC	粉红	清澈	无
		ZDBC	粉红	清澈	无
		空白对照	粉红	清澈	无

4.2 测试程序

将已培养48h~72h生长旺盛的细胞消化后配制成密度 1.0×10^5 个/mL接种于96孔板中, 每孔100uL。待细胞长成单层后, 去除原来的培养液, 分别加入100uL (100%、50%、25%、12.5%) 浸提液、空白对照浸提液、阳性对照液 (100%、50%、25%、12.5%) 和阴性对照液 (100%), 每组3个复孔, 空白对照浸提液加入到96孔板第2竖排和第11竖排中。加样完成后, 将96孔板置于37℃, 5% CO₂ 培养箱培养24小时。

培养24h后, 取出96孔板先做细胞形态学观察, 但不做细胞毒性做评判。然后吸出原来的培养液, 每孔加50uLMTT(1mg/mL), 继续培养2小时, 结束后吸出上清, 加100uL99.9%纯度的异丙醇溶解结晶; 在酶标仪上以570nm为主吸收波长, 650nm为参考波长测定吸光度值。

整个测试过程的环境条件符合测试要求并进行如实记录, 所有记录符合相关的法规和STC 操作准则要求。



5. 评价和统计分析

MTT法是一种显色细胞毒性测试方法。它定量测量了细胞接受浸提液或溶液后的细胞活力和细胞增殖情况。代谢活跃的细胞通过活细胞线粒体中的琥珀酸脱氢酶的作用, 将黄色四唑盐MTT (3-(4, 5-二甲基噻唑-2)-2, 5-二苯基四氮唑溴盐) 还原为水不溶性的蓝紫色结晶甲瓚并沉积在细胞中。黄色到紫色的变化可以通过光谱光度测量进行定量分析。

吸光度值低于空白对照细胞表明了细胞活性的降低, 而相反吸光度值变高则表明了细胞活性的增加。

样品中活细胞数量的减少也引起了细胞代谢活动的减少。这个减少直接与蓝紫色甲瓚结晶形成相关, 并被570nm吸光度检测到。

细胞活力百分比就是样品测量值与对照细胞的比值, 根据下列公式进行计算:

$$\text{细胞活力百分比} = \frac{100 \times \text{OD}_{570e}}{\text{OD}_{570rc}}$$

OD_{570e} 是空白孔修正后的测试样品或对照的吸光度均值。

OD_{570rc} 是空白孔修正后的空白对照的吸光度均值。

试验测试结果有效应满足:

倒置显微镜下观察细胞, 排除细胞接种错误; 审核测试过程, 排除其他人为误差; 空白对照的平均吸光度值应 ≥ 0.2 , 左侧空白对照 (竖排2) 和右侧空白对照 (竖排11) 的吸光度平均值差异不大于15%; 若显示有细胞毒性, 50%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。

越低的细胞活力百分比, 表明测试样品存在越高的潜在细胞毒性。若测试样品浸提液细胞活力百分比小于70%, 则判定其存在细胞毒性。

6. 结果

所有系统适用性标准得到满足, 表示这是一个有效的测试分析。



表格 8 分别测试数据

样品	对照的细胞活力百分比	系统适用性
ZDEC(100%, 未稀释)	1.27%	满足要求
ZDEC (50%)	5.19%	
ZDEC (25%)	19.58%	
ZDEC (12.5%)	86.36%	
ZDBC(100%, 未稀释)	2.73%	满足要求
ZDBC (50%)	91.02%	
ZDBC (25%)	98.29%	
ZDBC (12.5%)	95.62%	
阴性对照(100%, 未稀释)	100%	满足要求

样品	测试样品细胞活力百分比	潜在细胞毒性
测试样品 (100%, 未稀释)	95.55%	无潜在细胞毒性
测试样品(50%)	100%	无潜在细胞毒性
测试样品(25%)	100%	无潜在细胞毒性
测试样品(12.5%)	100%	无潜在细胞毒性

7. 结论

实验过程中, 测试样品浸提液100%浓度的细胞活性大于70%, 测试样品浸提液对L929小鼠成纤维细胞没有细胞毒性的倾向性。
结果和结论仅对收到的测试样品。任何由该测试数据向其他样品的推断由客户负责。

8. 记录

所有有关本研究的原始数据及最终报告的一个副本按照STC标准程序保留在指定STC归档文件里。



9. ISO 符合声明

所有程序都符合 ISO 17025 要求。

10. 参考文献

ISO 10993-1:2009 医疗器械生物学评价第1部分: 风险管理过程中的评价与测试。

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: 样品制备和参照样品。

美国联邦药典 37, 国家处方集 32 (USP), 通则 <87>, 生物学反应测试, 体外 (2014)。

美国联邦法规 (CFR), 标题 21, 58 部分, 良好实验室规范。

ISO/IEC 17025:2005-5-15 《检测和校准实验室能力的通用要求》



附录 1 - 测试样品照片



***** 全文完 *****