CMA
190021344215

中国认可
国际互认
检测
TESTING
CNAS L9783

广东纽唯质量技术服务有限公司
NEWAY TESTING LABORATORY

试验报告
Testing Report

体外细胞毒性试验 GB/T 16886.5-2017

（MTT 法）

报告编号：WT21010146-1

样品名称：有机硅精密薄膜

生产单位：杭州圭臬新材料科技有限公司

委托单位：杭州包尔得新材料科技有限公司

Neway TESTING

说　明

一、　委托单位如果对本报告有异议，请于收到报告之日起 15 日内以书面形式提出，逾期不予受理。

二、　本报告所出具的数据和结论，是对来样所检项目的检验结果。

三、　本报告经涂改、增删或未加盖纽唯检验检测专用章的均无效。

四、　本报告的检验结果和检验单位名称，未经我公司书面同意，不得用于广告、评优及商业宣传。

地址：广州市黄埔区敬业三街 1 号 H 栋 402A 房　　电话：020-82002131
邮编：510663　　传真：020-82006951　　E-mail：cso@newayest.com

目 录

试 验 总 结 1

前 言 2

一、 材料信息 3

1.1 样品 3
1.2 试剂 3
1.3 仪器设备 4
1.4 样品及对照样品制备 4

二、试验方法 5

2.1 试验体系 5
2.2 试验步骤 5
2.3 数据分析 6
2.4 评价标准 6

三、试验结果 7

四、结 论 8

五、记录保存 8

附录 I MTT 法结果 9

NEWAY TESTING

纽唯 Neway TESTING

试 验 总 结

本实验委托方：杭州包尔得新材料科技有限公司，地址：浙江省杭州市经济技术开发区 5 号路 188 号。生产单位：杭州圭臬新材料科技有限公司，地址：浙江省杭州市经济技术开发区 5 号路 188 号。

检测样品：有机硅精密薄膜，采用 MEM 培养基（含 10%胎牛血清）制备浸提液，根据标准 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》中附录 C 推荐的方法进行体外细胞毒性试验。

将适当的样品浸提液接触培养细胞，同样将相应的空白对照液、阴性和阳性对照浸提液分别接触培养细胞，24 小时后，测定每组的吸光度值，并计算细胞活力百分比，评价样品浸提液细胞毒性作用的潜在性。

结论：	**在本次试验条件下，100%样品浸提液的细胞存活率为 104.66%，提示 100%浓度样品浸提液无潜在的细胞毒性。**

试验人员：刘上楼　　签名：

审核人员：王　猛　　签名：

授权签字人：徐红蕾

签字：　　签发日期：二〇二一 年 五 月 十八 日

广东纽唯质量技术服务有限公司
（检验检测专用章）

前 言

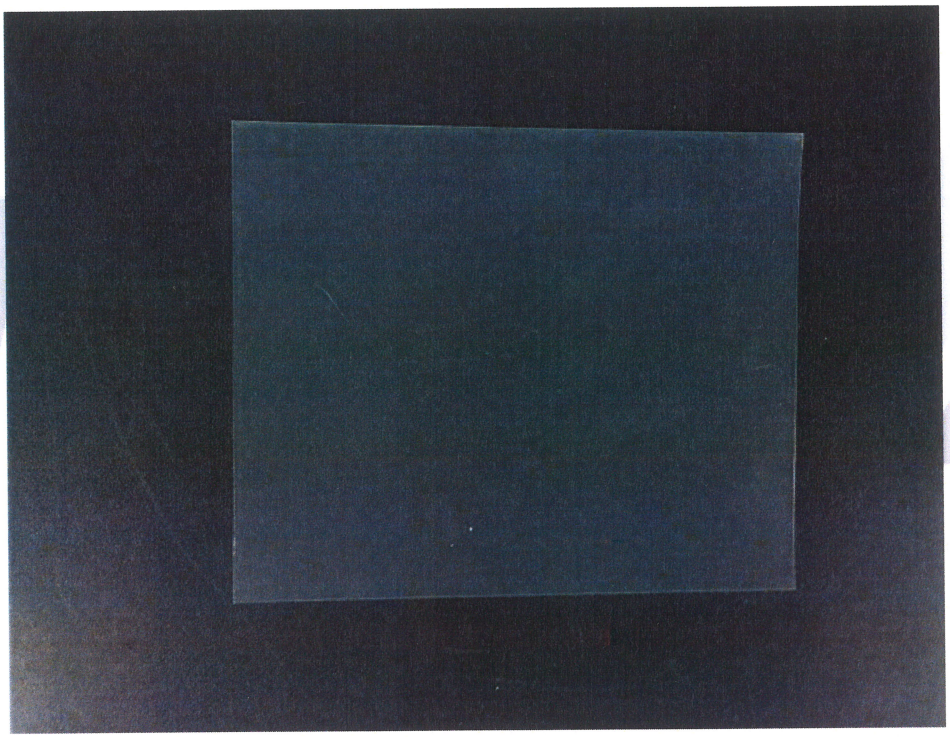
按照 GB/T 16886.12-2017 的要求浸提样品，并依据标准 GB/T 16886.5-2017《医疗器械生物学评价 第 5 部分：体外细胞毒性试验》中附录 C 推荐的方法对浸提物进行体外细胞毒性试验。

该项试验的目的是为了确认样品浸提液与细胞接触之后，是否能引起细胞的毒性反应。

样品接收日期： 2021 年 05 月 08 日

试验开始日期： 2021 年 05 月 12 日

试验结束日期： 2021 年 05 月 14 日



样品照片

Veway 纽唯

一、 材料信息

1.1 样品

委托单位提供的样品信息和处理方式如下：

样品名称：	有机硅精密薄膜
指定部位或材料：	未提供
预期用途：	医疗器械：创伤敷料
样品批号：	未提供
样品型号：	KRN-100
稳定性试验：	未委托
生产日期：	未提供
有效日期：	未提供
贮存条件：	室温
样品材料：	聚二甲基硅氧烷（硅橡胶）
样品状态：	固态
灭菌方式：	未灭菌
样品前处理方法：	未处理

1.2 试剂

苯酚（生产厂家：广州和为化工有限公司，批号：14155174）；

MTT（生产厂家：SIGMA，批号：MKCL9866）；

胎牛血清（生产厂家：HYCLONE，批号：DD19362264）；

胰蛋白酶/EDTA（生产厂家：GIBCO，批号：2152925）；

MEM 培养基（生产厂家：GIBCO，批号：2120859）；

青霉素、链霉素（生产厂家：GIBCO，批号：2211093）；

异丙醇（生产厂家：天津市致远化学试剂有限公司，批号：20194030118）。

高密度聚乙烯（生产厂家：USOLF，批号：P25141115）

1.3 仪器设备

水浴恒温振荡器（仪器编号：K2017-01-01）；

二氧化碳培养箱（仪器编号：K2016-05-01）；

超净工作台（仪器编号：Z2016-01-01）；

倒置相差显微镜（仪器编号：R2016-02-02）；

可调精密移液器（仪器编号：D2016-02-04）；

可调精密移液器（仪器编号：D2016-03-04）；

可调精密移液器（8 通道）（仪器编号：D2016-04-04）；

振荡器（仪器编号：J2016-01-01）；

酶标仪（仪器编号：X2016-02-01）；

电子天平（仪器编号：C2016-01-01）。

1.4 样品及对照样品制备

无菌操作，按表 1 的方法及比例（样品：浸提介质）在密闭的惰性容器内浸提，浸提介质为含 10%胎牛血清的 MEM 培养基。浸提过程在水浴恒温振荡器中进行。

表 1 样品及对照样品制备信息

组别		取样	灭菌方法	浸提比例（样品：浸提介质）	浸提条件	浸提液状态
样品浸提液组	样品	随机取样	高温高压蒸汽灭菌 (121℃ 20min)	6cm^2:1ml	37℃，24h	澄清
阴性对照组	高密度聚乙烯	随机取样	高温高压蒸汽灭菌 (121℃ 20min)	0.2g:1ml	37℃，24h	澄清
空白对照组	浸提介质	/	/	/	37℃，24h	澄清
阳性对照组	5g/L 苯酚溶液	/	/	/	37℃，24h	澄清

纽唯 Veway

二、试验方法

2.1 试验体系

2.1.1 细 胞 株：NCTC clone 929（L-929）

2.1.2 细胞来源：中国科学院细胞库

2.1.3 传　　代：传代 48h～72h 生长旺盛的细胞

2.1.4 试验体系的合理性：细胞毒性试验是医疗器械生物学评价体系中最重要的检测指标之一，能在短期内检出样品对细胞的影响作用。L-929 细胞对试验样品浸提液反应灵敏。

2.1.5 实验室：获得中国合格评定国家认可委员会（CNAS）实验室认可及国家检验检测机构资质认定（CMA）认可，符合 CNAS-CL01 或 ISO/IEC17025、《检验检测机构资质认定能力评价检验检测机构通用要求》（RB/T214-2017）及《医疗器械检验机构资质认定条件》规定的要求。

2.1.6 人员：试验人员是经过培训且具有资格。

2.2 试验步骤

2.2.1 将 L-929 细胞培养在含 10%胎牛血清和双抗（青霉素 100U/ml，链霉素 100 μg/ml）的 MEM 培养液中，置于 37℃，5%CO_2 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，调整细胞浓度至 1×10^5 个/ml，将配制好的 1×10^5 个/ml 细胞悬液接种于 96 孔培养板（Corning Inco.），设空白对照、阴性对照（100%）、阳性对照（100%）、100%样品浸提液组、75%样品浸提液组、50%样品浸提液组和 25%样品浸提液组，每组各设 5 个平行孔，每孔接种 100μl 细胞悬液。

2.2.2 置于 CO_2 培养箱（含体积分数 5%二氧化碳气体，下同）37℃培养 24h 后，弃去原培养液。分别加入 100μl 不同浓度的样品浸提液（100%、75%、50%、25%）、空白对照液、阳性对照液（100%）和阴性对照液（100%），置于 37℃，5%CO_2 培养箱中继续培养 24h，置显微镜下观察细胞形态。

2.2.3 24h 培养结束后，弃去上清液，每孔加入 50μl 质量浓度为 1mg/ml 的 MTT 溶液，继续置于 37℃，5%CO_2 培养箱中培养 2h 后，吸弃上清液，加入 100μl 异丙醇，置振荡器上振荡至结晶完全溶解，在酶标仪以 570nm 为主吸收波长，650nm 为参考波长测定吸光度。

2.2.4 整个试验过程按无菌操作要求进行。

纽唯 Neway

2.3 数据分析

2.3.1 计算各组测定的吸光度值均数±标准差（Mean±SD）。

2.3.2 按照以下公式计算细胞活力百分比：

细胞活力百分比 = ⟨样品（或阳性或阴性）组$\overline{[OD570-OD650]}$ / 空白对照组$\overline{[OD570-OD650]}$⟩×100%

2.4 评价标准

2.4.1 若 100%浓度的样品浸提液组的细胞存活率≤70%，表明样品有潜在的细胞毒性。

2.4.2 100%浓度的样品浸提液的细胞活力百分比为最终结果。

2.4.3 未接触样品的空白组的吸光度 OD_{570} 的绝对值平均数应≥0.2。

2.4.4 设置在 96 孔板左侧（第 2 列）和右侧（第 11 列）的空白孔的平均 OD 值与所有空白孔的平均 OD 值的偏差不超过 15%。

Neway TESTING

三、试验结果

3.1 本次试验结果如下：

a). 100%样品浸提液的细胞活力百分比为 104.66%。（详见附录 I）

b) 阴性对照组未检出细胞毒性作用，阳性对照组检出细胞毒性作用；

c) 未接触样品的空白组的吸光度 OD_{570} 的绝对值平均数为 0.5687；

d) 设置在 96 孔板左侧（第 2 列）和右侧（第 11 列）的空白孔的平均 OD 值与所有空白孔的平均 OD 值的偏差值为 6.63 % 。

e)各比例样品浸提液组组，对照组细胞形态学观察结果，见表 2。

表 2 组细胞形态学观察结果

组别	添加浸提液（对照液）前	添加浸提液（对照液）24h 后
阳性对照组	○	╳
阴性对照组	○	○
空白对照组	○	○
100% 样品浸提液	○	○
75%样品浸提液	○	○
50%样品浸提液	○	○
25%样品浸提液	○	○

备注:

“○” 能看见离散胞质颗粒，但没有裂解细胞和细胞生长抑制。

“□” 不超过20%的细胞是圆形的，漂浮的或者细胞质有颗粒的，或者形态发生明显变化的；偶见发生裂解的细胞；可观察到轻微的生长抑制。

“△” 不超过50%的细胞是圆形的，漂浮的或者细胞质有颗粒的，或者形态发生明显变化的，没有广泛的细胞裂解;可观察到的生长抑制不超过50%。

“◇” 不超过70%的细胞层含有圆形细胞或裂解；细胞层未完全破坏，但可观察到的生长抑制超过50%。

“╳” 几乎完全或完全破坏细胞层。

综上所述，说明本次试验结果为有效结果。

3.2 结果和结论仅适用于被检测的样品。检测机构没有对这些结果进行进一步的评价。委托单位负责解释这些数据是否适用于其它样品。所有的步骤是按照试验操作规范操作进行的。

纽唯 Neway

四、结 论

在本次试验条件下，100%样品浸提液的细胞存活率为 104.66%，提示 100%浓度样品浸提液无潜在的细胞毒性。

五、记录保存

与本次试验相关的所有原始数据和一份报告按广东纽唯质量技术服务有限公司档案管理要求留存。

Neway TESTING

附录 I　MTT 法结果

组别		OD(570nm-650nm)均值	标准差 SD	细胞存活率
空白对照组		0.5687	0.04319	/
阴性对照组		0.6422	0.01999	112.92%
阳性对照组		0.0112	0.00589	1.97%
样品浸提液组	**100%样品浸提液**	0.5952	0.01089	**104.66%**
	75%样品浸提液	0.6326	0.04498	111.24%
	50%样品浸提液	0.6894	0.02483	121.22%
	25%样品浸提液	0.6494	0.01486	114.19%

以下空白

NEWAY TESTING

纽唯 Neway

有限公司

广东纽唯质量技术服务有限公司

地址：广州市黄埔区敬业三街 1 号 H 栋 402A 房

邮编：510663

电话：020-82002131

传真：020-82006951

主页：http://gdneway.com