



230015349795



中国认可
国际互认
检测
TESTING
CNAS L2954

检 测 报 告

报告编号: SDWH-M202304595-1

600D 牛津布 体外细胞毒性试验

参照 ISO 10993-5: 2009

MTT 法

含 10%胎牛血清的 MEM 浸提

委托单位: 常州市彭义纺织品有限公司

地 址: 江苏省常州市武进区天安数码城 B2-1005 室



苏州苏大卫生与环境技术研究所有限公司

地址: 中国江苏苏州高新区真北路 88 号

网址: www.sudatest.com

直线: +86 512 65880038

邮编: 215153

电子邮箱: med@sudatest.com

免费电话: 400 107 8828



目录

检测报告说明3

日期确认4

报告摘要5

检测报告正文6

1 目的6

2 检测依据6

3 执行规范6

4 试验和对照样品确定6

 4.1 试验样品6

 4.2 对照样品6

 4.2.1 阴性对照样品6

 4.2.2 阳性对照样品7

 4.2.3 空白对照7

5 仪器和试剂7

 5.1 仪器设备7

 5.2 试剂7

6 试验系统鉴别8

7 试验系统和给药途径确认8

8 试验设计8

 8.1 浸提液制备8

 8.1.1 样品前处理8

 8.1.2 样品浸提8

 8.2 试验步骤8

 8.3 结果9

 8.4 质量检查9

 8.5 数据分析9

 8.6 评价标准9

9 结论9

10 记录存储9

11 保密协议9

12 试验偏离声明9

附录一 结果10

附录二 试验样品照片11

附录三 客户提供的资料12

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。



日期确认

接样日期	2023-11-29
试验计划书生效日期	2023-12-08
试验操作开始日期	2023-12-08
试验操作结束日期	2023-12-22
报告完成日期	2023-12-28

编制：

金小楠

2023-12-27

日期

审核：

甘明川

2023-12-28

日期

签发：

朱雨婷

2023-12-28

日期

授权签字人

苏州苏大卫生与环境技术研究有限公司



报告摘要

1 试验样品

样品名称	600D 牛津布
制造商	常州市彭义纺织品有限公司
地址	江苏省常州市武进区天安数码城 B2-1005 室
型号	600D
批号	PENGY1031

2 检测依据

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

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-M202304595-1。

4 结论

在本次试验条件下，试验样品对 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 检测依据

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

3 执行规范

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 230015349795。

4 试验和对照样品确定

4.1 试验样品

样品名称	600D 牛津布
制造商	常州市彭义纺织品有限公司
制造商地址	江苏省常州市武进区天安数码城 B2-1005 室
来样原始状态	未灭菌
CAS 编号	N/A
型号	600D
规格	600D
批号	PENGY1031
样品材料	DTY
包装材料	塑料袋
物理状态	固体
颜色	黑色
密度	72T
稳定性	稳定
溶解度	不溶
保存条件	室温
预期用途	医疗用品
附加信息	N/A

试验样品信息是由样品委托单位提供。

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：R149K0
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：粉末
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℃

5 仪器和试剂

5.1 仪器设备

仪器名称	仪器编号
高压灭菌器	SDWH3023
恒温振荡器	SDWH3976
钢直尺	SDWH463
分析天平	SDWH3015
CO ₂ 培养箱	SDWH3795
倒置显微镜	SDWH2882
洁净工作台	SDWH3825
酶标仪	SDWH3946
冷冻离心机	SDWH3806
细胞计数仪	SDWH3764
微孔板振荡器	SDWH2121
洁净工作台	SDWH3831

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	MKCR0748
胎牛血清	Viva Cell	2318150
MEM	HyClone	AJ30742834
胰酶	GiBco	2523117
青霉素链霉素	GiBco	2585616
PBS	HyClone	AH30026717
异丙醇	国药集团化学试剂有限公司	20220926

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 试验样品处理

高压蒸汽灭菌 121°C ,30 min。

8.1.1.2 对照样品处理

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，计算每份样品的接触部分（单面）的标准表面积，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（浸提前和浸提后）。浸提液立即用于测试。

样品	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	60 cm ²	6 cm ² :1 mL	10.0 mL	37°C, 24 h	澄清
阴性对照	60 cm ²	3 cm ² :1 mL	20.0 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	澄清

试验样品和浸提液在浸提前后均无明显变化。浸提液 pH 值未经调整，未经过滤、离心、稀释等处理。

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；

待培养 24 h 细胞长成单层后，在显微镜下观察 96 孔培养板中细胞增长状态，确保各孔中细胞增殖相对相等。之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%、50%、25%、12.5%）、空白对照液、阳性对照（100%）和阴性对照液（100%），然后置于 37°C培养箱中（5% CO₂，37°C，>90%湿度）培养 24 h。每组做 5 个平行样；

培养 24 h 后，取出 96 孔板先在显微镜下做细胞形态学观察，然后吸出原来的培养液，每孔加 50 µL MTT（1 mg/mL），置于 37°C培养箱中（5% CO₂，37°C，>90%湿度）中孵育 2 h，吸弃上清，加入 100 µL 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 76.6%，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 %。

本次试验符合上述质量检查要求。

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)。

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

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

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。
阴性对照			个别细胞有颗粒，细胞无裂解，生长状态良好。
阳性对照	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。	细胞裂解死亡。
100%样品浸提液			偶见圆形细胞及有颗粒或细胞形态改变，偶见裂解细胞，仅轻微的生长抑制。
50%样品浸提液			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。
12.5%样品浸提液			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	0.5009±0.037	100.0
阴性对照	0.5228±0.009	104.4
阳性对照	0.0144±0.003	2.9
100%样品浸提液	0.3838±0.006	76.6
50%样品浸提液	0.4136±0.009	82.6
25%样品浸提液	0.4362±0.010	87.1
12.5%样品浸提液	0.4648±0.007	92.8

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