評估「」之

細胞毒性試驗

試驗計畫書

Study Protocol

泓佑生物科技有限公司

桃園市大園區青昇二街68號6樓

電話：+886-3-2870051  
傳真：+886-3-2871151  
email：service@acebiolab.com

評估「」之細胞毒性試驗

1. 試驗目的

本試驗係依據ISO 10993-5：2009規範執行試驗。NCTC clone 929細胞株經試驗物質萃取培養液處理48小時後，觀察對照組及劑量組細胞之生長形態及存活數目，用以評估試驗物質對於受試細胞之細胞毒性。

1. 一般資訊
   1. 試驗委託單位

委託單位名稱：

委託單位地址：

聯絡電話： 傳真：

委託單位代表 ：

* 1. 試驗執行單位

試驗機構名稱：泓佑生物科技有限公司

試驗機構地址：桃園市大園區青昇二街68號6樓

聯絡電話：+886-3-2870051 傳真：+886-3-2871151

試驗主持人：

1. 試驗系統
   1. 細胞株：NCTC clone 929
   2. 培養基：MEM培養液
   3. 培養條件：於5%（V/V）二氧化碳之37 ± 2℃ 培養箱中進行培養
2. 試驗方法
   1. 試驗物質製備與組別：
      1. 將試驗物質以高溫高壓方式（121℃×30min）滅菌後，依據 ISO 10993-12：2012 規範萃取試驗物質，萃取溶劑為細胞培養液，並以原倍萃取液進行實驗。
      2. 實驗分成陽性對照組、陰性對照組、試劑對照組及試驗組。每組至少進行三重複試驗。
   2. 試驗步驟：
      1. 將保存之L929細胞株自液態氮桶取出解凍。
      2. 適當活化後，取1×105細胞於含試驗物質萃取培養液、陰性及陽性對照組培養液。
      3. 細胞持續培養48小時後進行觀察。
      4. 定性評估：根據細胞形態予以評價，如下表所示。
      5. 定量評估：計算細胞經處理48小時後之存活率。

表 1：細胞毒性級數判讀標準（定性分析）

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| 級數 | 溶解反應 | 細胞情況 |
| 0 | 無 | 無細胞溶解或細胞質內缺乏顆粒；細胞生長不受抑制 |
| 1 | 稍微 | 未超過 20%細胞成圓狀、未完全貼附及細胞質內缺乏顆粒；些微的細胞生長受抑制 |
| 2 | 輕微 | 未超過 50%的細胞成圓狀或細胞質內缺乏顆粒，或大多細胞無溶解；未超過 50%的細胞生長受抑制 |
| 3 | 中度 | 未超過 70%的細胞成圓狀或細胞未完全溶解；但細胞生長受抑制超過 50% |
| 4 | 重度 | 細胞與形態幾乎完全溶解或改變 |

1. 參考文獻
   1. 中華民國國家標準(CNS 14393-5)醫療器材生物性評估-第5部：體外細胞毒性試驗。
   2. Dijkhuizen-Radersma R, Hesseling SC, Kaim PE, Groot K, Bezemer JM. 2002. Biocompatibility and degradation of poly (ether-ester) microspheres: in vitro and in vivo evaluation. Biomaterials 23: 4719- 4729.
   3. Biological evaluation of medical devices-Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. ISO 10993-5, 2009.
   4. Biological evaluation of medical devices-Part 12: Sample preparation and reference materials. ISO 10993-12, 2012.
   5. USP 34, 87 Biological Reactivity Tests, in vitro.
2. 試驗預計時程

試驗前準備：1週

試驗分析、數據整理：3週

正式報告：2週

1. 計畫核准

委託單位名稱：

委託單位地址：

聯絡電話： 傳真：

日期：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_

試驗機構名稱：泓佑生物科技有限公司

試驗機構地址：桃園市大園區青昇二街68號6樓

聯絡電話：+886-3-2870051 傳真：+886-3-2871151

試驗主持人：

日期：\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_\_