

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。

2. 一般資訊

2.1 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：

2.2 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：

3. 試驗系統

3.1 細胞株：NCTC clone 929

3.2 培養基：MEM 培養液

3.3 培養條件：於 5% (V/V) 二氧化碳之 $37 \pm 2^{\circ}\text{C}$ 培養箱中進行培養

4. 試驗方法

4.1 試驗物質製備與組別：

4.1.1 將試驗物質以高溫高壓方式($121^{\circ}\text{C} \times 30\text{min}$)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。

4.1.2 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。

4.2 試驗步驟：

4.2.1 將保存之 L929 細胞株自液態氮桶取出解凍。

4.2.2 適當活化後，取 1×10^5 細胞於含試驗物質萃取培養液、陰性及陽性對照組培養液。

4.2.3 細胞持續培養 48 小時後進行觀察。

4.2.4 定性評估：根據細胞形態予以評價，如下表所示。

4.2.5 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

5. 參考文獻

- 5.1 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。
- 5.2 Dijkhuizen-Radersma R, Hesselning 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.
- 5.3 Biological evaluation of medical devices-Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity. ISO 10993-5, 2009.
- 5.4 Biological evaluation of medical devices-Part 12: Sample preparation and reference materials. ISO 10993-12, 2012.
- 5.5 USP 34, 87 Biological Reactivity Tests, in vitro.

6. 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

7. 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：_____