



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0993—2015

医疗器械生物学评价 纳米材料： 体外细胞毒性试验(MTT 试验和 LDH 试验)

**Biological evaluation of medical devices—Nanomaterial:
In vitro cytotoxicity tests (MTT assay and LDH assay)**

2015-03-02 发布

2016-01-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布

目 次

前言	I
引言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语、定义和缩略语	1
4 样品、对照品和试剂制备	2
5 细胞系	3
6 培养液	3
7 试验过程	4
8 数据记录与分析	5
9 接受准则	6
10 结果评定	6
附录 A (资料性附录) 试剂、耗材及设备	8
附录 B (资料性附录) 96 孔板加样模板示例	9
参考文献	10

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本标准由国家食品药品监督管理总局提出。

本标准由中国食品药品检定研究院归口。

本标准起草单位：中国食品药品检定研究院。

本标准主要起草人：徐丽明、邵安良、袁博、付海洋、姜华、冯晓明、王春仁。

引 言

纳米材料引起细胞毒性的机理主要包括对细胞线粒体功能的影响及对细胞膜的损伤,可以分别用3-(4,5-二甲基-2-噻唑)-2,5-二苯基-2-氢-四氮唑溴(MTT)试验和乳酸脱氢酶(LDH)试验进行检测。然而,有些纳米材料可能对MTT测试和LDH测试有一定的干扰,检测时需要排除干扰因素来获得准确结果。为建立适合纳米材料及组合在医疗器械中纳米材料的细胞毒性评价方法,本标准作为GB/T 16886.5细胞毒性试验的补充,增加了排除干扰因素的处理方法以及阳性对照的选择。同时,增加了LDH试验方法,用以定量地评价纳米颗粒对细胞膜的损伤。本标准作为适合纳米材料的MTT试验和LDH试验的试验方法标准,为正确评价纳米材料及组合在医疗器械中纳米材料的细胞毒性提供技术支持。

医疗器械生物学评价 纳米材料： 体外细胞毒性试验(MTT 试验和 LDH 试验)

1 范围

本标准规定了纳米材料及组合在医疗器械中的纳米材料的体外细胞毒性试验方法、试样制备、操作步骤及评价。

本标准适用于纳米材料及组合在医疗器械中的纳米材料(颗粒或纤维被包裹或结合在一种不能释放或非游离状态的除外)的体外细胞毒性评价,包括以 L929 为受试细胞的 MTT 试验和 LDH 试验。本标准是 GB/T 16886.5 的补充。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB/T 16886.1 医疗器械生物学评价 第 1 部分:风险管理过程中的评价与试验

GB/T 16886.5 医疗器械生物学评价 第 5 部分:体外细胞毒性试验

GB/T 16886.12 医疗器械生物学评价 第 12 部分:样品制备与参照样品

3 术语、定义和缩略语

3.1 术语和定义

GB/T 16886 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1.1

纳米材料 nanomaterial

物质结构在三维空间中至少有一维处于纳米尺度,或由纳米结构单元构成的且具有特殊性质的材料。

3.1.2

纳米材料医疗器械 nanomaterial medical devices

组合有或含有纳米材料的医疗器械。

3.2 缩略语

下列缩略语适用于本文件。

APAP:对乙酰氨基酚(acetaminophen)

DMSO:二甲基亚砷(dimethyl sulfoxide)

FBS:胎牛血清(fetal bovine serum)

L929:小鼠成纤维细胞(mouse fibroblast cell)

LDH:乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase)

MEM:培养液(modified eagles medium)