



2012000360S

检 验 报 告

报告编号：S2015111619

委托方：日照三奇医疗卫生用品有限公司

生产单位：同上

样品名称：医用外科口罩

型 号：17cm×17cm 平面型

检验类别：委托检验



本复印件有效期至2020年6月21日，
仅限于内部使用，网络展示无效。

国家食品药品监督管理局济南医疗器械质量监督检验中心

国家食品药品监督管理局济南医疗器械质量监督检验中心

生物学试验报告首页

报告编号: S2015111619

样品名称	医用外科口罩	样品编号	S2015111619
商标	3Q	检验类别	委托检验
规格型号	17cm×17cm 平面型	样品批号	/
委托方	日照三奇医疗卫生用品有限公司	样品状态	样品完好
委托方地址	日照市东港区河山国际工业园	贮存条件	干燥清洁
生产单位	日照三奇医疗卫生用品有限公司	样品数量	35套
受检单位	日照三奇医疗卫生用品有限公司	生产日期	2015年10月30日
收样日期	2015-11-16	检验日期	2015-11-30~2016-01-08
试验项目	细胞毒性、迟发型超敏反应和皮肤刺激试验。		
试验依据	详见《医用外科口罩》生物学试验委托协议		
备注	/		

本样品测试的目的是对试验样品进行生物学评价,始于 2015-11-16 委托协议签署,本中心是按照 CFDA 济南医疗器械质量监督检验中心《管理手册》、ISO/IEC 17025 运行并经 CNAS 认可的实验室。结果只适用于接受测试的试验样品。无本机构授权,该报告除完整复制外不应被分割复制或转载。

批准: 刘海军
 职务: 副主任

审核: 侯珂
 职务: 室主任

本复印件有效期至 2020 年 6 月 21 日,
 仅限于国药集团青岛使用,网络展示无效。

(检验报告专用章)
 签发日期: 2016 年 01 月 13 日
 济南食品药品监督管理局
 质量监督检验中心
 检验专用章

目 录

	页 码
一. 生物学试验报告首页.....	1
二. 目 录.....	2
三. 生物学试验报告签字页.....	3
四. 生物学评价试验.....	4
(一) 细胞毒性试验 (MTT 法).....	4
(二) 迟发型超敏反应 (封闭贴敷试验).....	8
(三) 皮肤刺激试验.....	14
生物学试验样品照片页.....	18
附件 生物学试验委托协议	



本复印件有效期至 2020 年 6 月 21 日，
仅限于回药使用，网络展示无效。

生物学试验报告签字页

1. 细胞毒性试验 (MTT 法)

试验人员: 王贤美 J1-10

复核人员: 王昕 J1-02

2. 迟发型超敏反应试验 (封闭贴敷试验)

试验人员: 林振华

复核人员: 褚祥宇 J1-26

3. 皮肤刺激试验

试验人员: 李春令

复核人员: 刘佳 J1-15

本页以下空白。



本复印件有效期至2020年6月21日,
仅限于国药集团青岛使用, 网络展示无效。

(一) 细胞毒性试验 (MTT 法)

1. 概述

细胞毒性试验是用体外细胞培养方法进行毒理学风险评价。本次试验是按国家标准 GB/T 16886.5-2003《医疗器械生物学评价第 5 部分：体外细胞毒性试验》中浸提液法（具体方法参考 GB/T 14233.2-2005《医用输液、输血、注射器具检验方法 第 2 部分：生物学试验方法》中细胞毒性试验 MTT 比色法）的规定进行的。试验日期为：2015-12-10~2015-12-14。

将样品试验液，阴性对照、阳性对照的浸提液及介质对照分别放于 6 个培养着 L929 小鼠成纤维细胞的细胞培养板孔内，该细胞在 37℃ 且含 5%CO₂ 的培养箱进行培养，72h 后将试验样品组、阴性对照组、阳性对照组及介质对照组培养后的细胞进行显微镜下观察，用 MTT 法测定相对增殖率。

在本次试验条件下，样品组与介质对照组比较，该医用外科口罩 L929 细胞的相对增殖率为 97%，细胞毒性反应分级为 1 级。阴性对照和阳性对照的试验结果与预期结果相符。

试验人员： 王贤美

复核人员： 王 昕

本复印件有效期至 2020 年 6 月 21 日，
仅限于 国联质检 使用，网络展示无效。

2. 主要检测仪器设备

倒置显微镜 1-080

酶标仪 1-085

CO₂ 培养箱 1-126

3. 样品制备

细胞培养基: MEM (HyClone®, 批号: NAG1435)

: 新生牛血清 (四季青®, 批号: 141013)

试验液制备: 按照委托方的要求, 基于 6cm²/mL 的比例, 72.0cm² 的试验样品在 12.0mL 含 10% 血清的细胞培养基中于 37±1℃ 浸提 24±2h, 作为试验液。

阳性对照: ZDEC Polyurethane (来源: Hatano Research Institute)。按每 0.2g 阳性对照加 1mL 含 10% 血清的细胞培养基的比例, 37±1℃ 浸提 24±2h。

阴性对照: High Density Polyethylene Film (来源: Hatano Research Institute)。按每 0.2g 阴性对照加 1mL 含 10% 血清的细胞培养基的比例, 37±1℃ 浸提 24±2h。

介质对照: 将不含试验样品的细胞培养液, 加入 10% 血清, 置于 37±1℃, 24±2h。

试验液状态:	试验组	阳性对照组	阴性对照组	介质对照组
	澄清	澄清	澄清	澄清

4. 试验方法

(1) 试验系统:

细胞株: 小鼠成纤维细胞 L929, 购自中国科学院典型培养物保藏委员会昆明细胞库。试验采用传代 48h~72h 生长旺盛的细胞。

MTT: Solarbio®, 批号 705B051

DMSO: 国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20140928

在含 10% 血清的细胞培养液的细胞培养瓶中, 37±1℃ 且含 5% 二氧化碳气体的空气中培养小鼠成纤维细胞 (贮存细胞解冻后, 要传代 2~3 次用于试验)。试验过程中全部溶液、玻璃器皿等应无菌, 并且宜在无菌条件下和层流柜 (生物安全标准) 无菌环境中进行操作。

(2) 试验步骤:

调整细胞密度为 1×10⁴ 个细胞/mL, 于 96 孔细胞培养板中加入 100μL/孔细胞悬液。置于细胞培养箱 (5%CO₂, 37℃) 中至半融合单细胞层。在倒置相差显微镜下检查每个板孔, 确保各板孔细胞增长相对相等, 吸出原培养基, 每列各 6 孔 (除外围孔) 分别加入 100μL 试验样品试验液、阴性对照浸提液、阳性对照浸提液、介质对照液 (加到 96 孔板的第 2 列和第 11 列)。置于细胞培养箱中培养 72h 后,

2. 主要检测仪器设备

倒置显微镜 1-080

酶标仪 1-085

CO₂ 培养箱 1-126

3. 样品制备

细胞培养基: MEM (HyClone®, 批号: NAG1435)

新生牛血清 (四季青®, 批号: 141013)

试验液制备: 按照委托方的要求, 基于 6cm²/mL 的比例, 72.0cm² 的试验样品在 12.0mL 含 10% 血清的细胞培养基中于 37±1℃ 浸提 24±2h, 作为试验液。

阳性对照: ZDEC Polyurethane (来源: Hatano Research Institute)。按每 0.2g 阳性对照加 1mL 含 10% 血清的细胞培养基的比例, 37±1℃ 浸提 24±2h。

阴性对照: High Density Polyethylene Film (来源: Hatano Research Institute)。按每 0.2g 阴性对照加 1mL 含 10% 血清的细胞培养基的比例, 37±1℃ 浸提 24±2h。

介质对照: 将不含试验样品的细胞培养液, 加入 10% 血清, 置于 37±1℃, 24±2h。

试验液状态:	试验组	阳性对照组	阴性对照组	介质对照组
	澄清	澄清	澄清	澄清

4. 试验方法

(1) 试验系统:

细胞株: 小鼠成纤维细胞 L929, 购自中国科学院典型培养物保藏委员会昆明细胞库。试验采用传代 48h~72h 生长旺盛的细胞。

MTT: Solarbio®, 批号 705B051

DMSO: 国药集团化学试剂有限公司, 批号: 20140928

在含 10% 血清的细胞培养液的细胞培养瓶中, 37±1℃ 且含 5% 二氧化碳气体的空气中培养小鼠成纤维细胞 (贮存细胞解冻后, 要传代 2~3 次用于试验)。试验过程中全部溶液、玻璃器皿等应无菌, 并且宜在无菌条件下和层流柜 (生物安全标准) 无菌环境中进行操作。

(2) 试验步骤:

调整细胞密度为 1×10⁴ 个细胞/mL, 于 96 孔细胞培养板中加入 100μL/孔细胞悬液。置于细胞培养箱 (5%CO₂, 37℃) 中至半融合单细胞层。在倒置相差显微镜下检查每个板孔, 确保各板孔细胞增长相对相等, 吸出原培养基, 每列各 6 孔 (除外围孔) 分别加入 100μL 试验样品试验液、阴性对照浸提液、阳性对照浸提液、介质对照液 (加到 96 孔板的第 2 列和第 11 列)。置于细胞培养箱中培养 72h 后,

在倒置相差显微镜下观察每个板孔的细胞形态。每孔加入 20 μ L 质量浓度为 5g/L 的 MTT 溶液，继续培养 4h 后弃去孔内液体，加入 150 μ L DMSO，置振荡器上振荡 10min，在酶标仪 570nm 和 630nm 波长下测定吸光度，按下式计算相对增殖率 (RGR)。

$$RGR = \frac{A}{A_0} \times 100\%$$

式中：

RGR-相对增殖率，%；

A- 供试品组（阴性、阳性组）吸光度；

A₀-介质对照组吸光度。

(3) 结果评价：

细胞毒性反应分级

级别	相对增殖率%
0	≥100
1	80~99
2	50~79
3	30~49
4	0~29

根据 RGR 按上表分级标准判定。阴性对照组的反应应不大于 1 级，阳性对照组至少为 3 级反应。如阴性对照组和阳性对照组反应不成立时应重新试验。

本页以下空白。



本复印件有效期至 2020 年 6 月 21 日，
仅限于国药集团内部使用，网络展示无效。

5. 试验结果

细胞毒性试验结果

MTT 法 测 定	分 组	结 果	平均值	相对增殖率 (%)	级别
	介质对照组		1.342	/	0
	试验样品组		1.297	97	1
	阴性对照组		1.312	98	1
	阳性对照组		0.041	3	4

6. 结论

本次试验条件下, 该医用外科口罩 MTT 法定量测定相对增殖率为 97%, 细胞毒性反应分级为 1 级。阴性对照和阳性对照的试验结果与预期结果相符。

本页以下空白。



本复印件有效期至 2020 年 6 月 21 日,
仅限于国药集团内部使用, 网络展示无效。

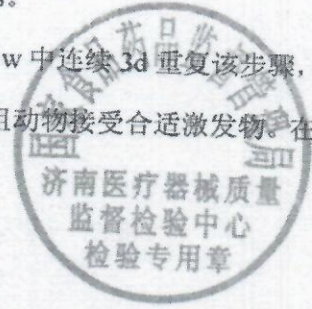
(二) 迟发型超敏反应 (封闭贴敷试验)

1. 概述

本次试验依据国家标准 GB/T 16886.10-2005 《医疗器械生物学评价第 10 部分：刺激与迟发型超敏反应试验》，对试验样品进行了迟发型超敏反应封闭贴敷试验，以评价试验样品在试验条件下使豚鼠产生皮肤致敏反应的潜能。试验日期为：2015-12-07~2016-01-08。

诱导阶段，将试验样品封闭式固定于豚鼠的背部皮肤上，1w 中连续 3d 重复该步骤，同法操作 3w，对照组动物以相同方法给予对照物。激发阶段，试验组和对照组动物接受合适激发物。在激发物移去后 26h 和 48h 观察所有动物试验部位的皮肤情况。

在本次试验条件下，医用外科口罩无豚鼠皮肤致敏反应。



试验人员： 林振华

复核人员： 褚祥宇

本复印件有效期至 2016 年 6 月 31 日，
仅限于国药集团内部使用，网络展示无效。

2. 样品制备

样品制备：将试验样品剪为约 25mm×25mm 大小。

对照物：约 25mm×25mm 大小的滤纸片。

3. 试验方法

(1) 试验动物

名称：豚鼠

品种：Hartley 白化豚鼠

来源：济南西岭角养殖繁育中心，许可证号：SCXK（鲁）20100005

性别：雌雄不限，雌性应未产并无孕

体重范围：300~400g

适应时间：5d

动物数目：15 只

标记方法：3~5%苦味酸溶液涂染法

(2) 试验系统的合理性

Hartley 白化豚鼠皮肤致敏试验资料丰富，已被国家标准确定为皮肤致敏试验首选动物。本试验依据国家标准 GB/T 16886.10-2005《医疗器械生物学评价第 10 部分：刺激与迟发型超敏反应试验》，选用 Hartley 白化豚鼠作为皮肤致敏实验动物。本试验室选用的阳性致敏试剂 1-氯-2,4-二硝基苯(DNCB)，已经用该方法证实了对 Hartley 白化豚鼠的易感性。

(3) 动物管理

饲养：按照“实验室动物管理条例”标准进行管理。

饲料：实验豚鼠维持饲料。北京华阜康生物科技股份有限公司，许可证号：SCXK（京）2014-0008。

水：自来水。

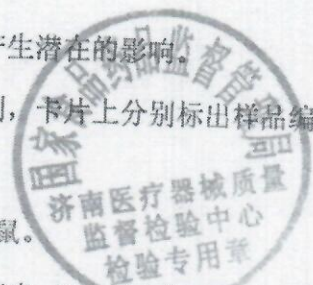
污染物：提供的食物和水中可能的污染物不会对本次试验结果产生潜在的影响。

饲养条件：将这些动物分组饲养在不锈钢笼具中，由卡片进行识别，卡片上分别标出样品编号和试验起止日期。

环境：普通环境，许可证号：SYXK（鲁）20140014，适用豚鼠。
温度范围 20℃~26℃，湿度范围 40%~70%。控制循环灯光（12 小时亮，12 小时暗）。

认证机构：山东省实验动物中心。发证机关：山东省科学技术厅。

本复印件有效期至 2021 年 6 月 21 日，
仅限于内部使用，网络展示无效。



人员：参与试验人员均经过培训，具有相应的资格。

选择：只选择健康的、以前未使用过的动物。

(4) 试验步骤

试验前 1d，对每只动物编号和称重后，用电剃刀剃去豚鼠背部的毛发，并观察每只动物总体健康状况。

诱导阶段：

将试验样品用医用透气胶带局部贴敷于每只动物的背部。6h 后移去医用透气胶带和试验样品。1w 中连续 3d 重复该步骤，同法操作 3w。对照动物使用对照物同法操作。

激发阶段：

最后一次诱导贴敷后 13d，用试验样品对全部试验动物和对照动物进行激发，将合适的激发物用医用透气胶带封闭固定于每只动物的腹部剃毛区。6h 后移去医用透气胶带和激发物。

动物观察：

激发接触后 24h，剃去激发部位及其周围部位的毛发。并在除去激发物后 26h 和 48h 观察试验组和对照组动物按 Magnusson 和 Kligman 分级标准对试验部位进行评分。

(5) 结果评价

按 Magnusson 和 Kligman 分级标准，对照组动物分级小于 1，而试验组中分级大于或等于 1 时一般提示致敏。如对照组动物分级大于或等于 1 时，试验组动物反应超过对照组中最严重的反应则认为致敏。如为疑似反应，推荐进行再激发以确认首次激发结果。试验结果表现为试验和对照动物中的阳性激发结果的发生率。

Magnusson 和 Kligman 分级标准：

敷贴试验反应	等级
无明显改变	0
散发性或斑点状红斑	1
中度融合性红斑	2
重度红斑和/或红肿	3

4. 试验结果

症状观察结果：试验组和对照组动物体重和症状观察结果见表 1。整个试验过程中除皮肤反应外，未观察到与处理相关的临床反应。

致敏反应结果：试验组和对照组激发后皮肤反应结果见表 2。各试验组动物激发部位皮肤未出现红斑和水肿，未观察到明显的致敏反应。

5. 结论

在本次试验条件下，各试验组动物激发部位皮肤未出现红斑和水肿，按 Magnusson 和 Kligman 分级标准，等级小于 1。试验结果表明，在本试验条件下，医用外科口罩无豚鼠皮肤致敏反应。

本页以下空白。



本复印件有效期至2020年6月21日，
仅限于国药集团内部使用，网络展示无效。

表1 试验组和对照组动物体重和症状观察结果

组别	编号	观察结果	
		试验前体重 (g)	皮肤反应外的症状观察
试验组	1	319	整个试验过程中动物未见异常表现
	2	328	整个试验过程中动物未见异常表现
	3	325	整个试验过程中动物未见异常表现
	4	361	整个试验过程中动物未见异常表现
	5	323	整个试验过程中动物未见异常表现
	6	371	整个试验过程中动物未见异常表现
	7	364	整个试验过程中动物未见异常表现
	8	357	整个试验过程中动物未见异常表现
	9	352	整个试验过程中动物未见异常表现
	10	335	整个试验过程中动物未见异常表现
对照组	1	330	整个试验过程中动物未见异常表现
	2	398	整个试验过程中动物未见异常表现
	3	388	整个试验过程中动物未见异常表现
	4	310	整个试验过程中动物未见异常表现
	5	334	整个试验过程中动物未见异常表现

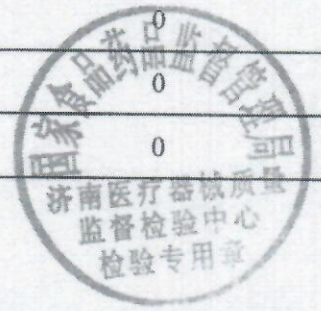
本页以下空白。

本复印件有效期至2020年6月21日，
仅限于内部使用，网络展示无效。

表2 试验组和对照组动物激发后皮肤反应结果

组别	编号	激发后皮肤反应观察结果	
		26h	48h
试验组	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0
	6	0	0
	7	0	0
	8	0	0
	9	0	0
	10	0	0
对照组	1	0	0
	2	0	0
	3	0	0
	4	0	0
	5	0	0

本页以下空白。



本复印件有效期至2020年6月21日，
仅限于因药械团标使用，网络展示无效。

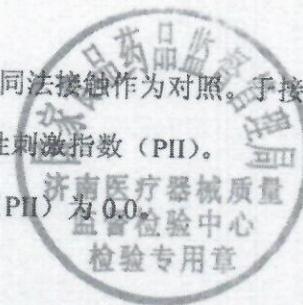
(三) 皮肤刺激试验

1. 概述

采用家兔进行皮肤刺激试验研究，以评价试验样品在试验条件下产生刺激反应的潜能。本次试验是根据国家标准 GB/T 16886.10-2005《医疗器械生物学评价第 10 部分：刺激与迟发型超敏反应试验》的规定进行的。试验日期为：2015-11-30~2015-12-04。

将试验样品单次直接接触兔脊柱两侧的皮肤 24h，将纱布块同法接触作为对照。手接触后(24±2) h、(48±2) h 和(72±2) h，对接触部位红斑、水肿记分，并计算原发性刺激指数 (PII)。

在本次试验条件下，该医用外科口罩家兔原发性刺激指数 (PII) 为 0.0。



试验人员： 李春令

复核人员： 刘 佳

本复印件有效期至 2020 年 6 月 21 日，
仅限于国药集团内部使用，网络展示无效。

2. 样品制备

试验样品：将样品制备成 2.5cm×2.5cm 大小作为试验样品。

对照样品：将纱布块制备成 2.5cm×2.5cm 大小作为对照样品。

3. 试验方法

(1) 试验系统：

名称：家兔

品种：新西兰白兔

来源：济南金丰实验动物有限公司，许可证号：SCXK(鲁)20140006

性别：本试验对此无特殊要求

体重范围：不低于 2kg

年龄：初成年

适应时期：至少 5d

动物数目：3 只

鉴定方法：笼签法

(2) 试验系统的合理性：

家兔的皮肤刺激试验在 GB/T 16886.10-2005 中已提到，已广泛应用于医疗器械/材料皮肤刺激评价。

(3) 动物管理：

饲养：按照“实验室动物管理条例”标准进行管理。

饲料：实验兔配合饲料。北京华阜康生物科技股份有限公司，许可证号：SCXK（京）2014-0008。

水：自来水。

污染物：提供的食物和水中可能的污染物不会对本次实验结果产生潜在的影响。

饲养条件：动物关养在不锈钢悬挂的笼舍中，由卡片进行识别。卡片上分别标出样品编号和试验起止日期。

环境：普通环境，许可证号：SYXK（鲁）20140014，适用普通级家兔。
温度范围 20-25℃，湿度范围 40-70%。控制循环灯光（12 小时亮，12 小时暗）。

认证机构：山东省实验动物中心。发证机关：山东省科学技术厅。

选择：仅选择健康的、皮肤完好未经试验过的动物。

(4) 试验步骤：

家兔于试验前 4h~24h 将动物背部脊柱两侧被毛除去(约 10cm×15cm 区域)，作为试验和观察部位。



图1 接触点排列

将试验样品和对照样品单次直接接触试验部位和对照部位,用 2.5cm×2.5cm 的纱布块按图 1 的排布覆盖样品接触部位,然后用绷带固定 24h。接触期结束后取下试验样品和对照样品,用持久性墨水对接触部位进行标记,除去残留试验样品。于接触后 (24±2) h、(48±2) h 和 (72±2) h 观察并记录接触点红斑、水肿反应,按下表标准进行评分:

表 1 皮肤反应记分系统

红斑和焦痂形成		水肿形成	
反应	记分	反应	记分
无红斑	0	无水肿	0
极轻微红斑 (勉强可见)	1	极轻微水肿 (勉强可见)	1
清晰红斑	2	清晰水肿 (肿起, 不超出区域边缘)	2
中度红斑	3	中度水肿 (肿起约 1mm)	3
重度红斑 (紫红色) 至焦痂形成	4	重度水肿 (肿起超过 1mm, 并超出接触区)	4

(5) 结果评价:

在 72h 评分后,分别将每只动物试验样品和对照样品在(24±2)h、(48±2)h 和(72±2)h 引起的全部红斑和水肿记分相加,再将所有记分之总和除以 6 (2 个观察部位×3 个观察时间)得出每只动物原发性刺激记分。

全部动物刺激记分相加后再除以 3 (动物总数) 得出试验样品原发性刺激指数,用试验样品平均原发性刺激记分减去对照样品的平均原发性刺激记分即为原发性刺激指数。

本页以下空白。

本复印件有效期至 2021 年 6 月 21 日,
仅限于国药集团内部使用,网络展示无效。

表2 兔原发性刺激指数类型

平均记分 (PII)	反应类型
0.0~0.4	极轻微
0.5~1.9	轻度
2.0~4.9	中度
5.0~8.0	重度

4. 试验结果

编号 /性 别	重 量 (kg)	部 位	试验组						对照组						
			24h		48h		72h		24h		48h		72h		
			ER	ED	ER	ED	ER	ED	ER	ED	ER	ED	ER	ED	
1 雄	2.8	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
单只动物记分			0						0						
2 雄	2.7	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
单只动物记分			0						0						
3 雄	2.5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
		2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
单只动物记分			0						0						

注：ER：红斑；ED：水肿

原发性刺激指数(PII)=0.0

5. 结论

在本次试验条件下，该医用外科口罩家兔皮肤反应刺激指数为0.0。

本页以下空白。

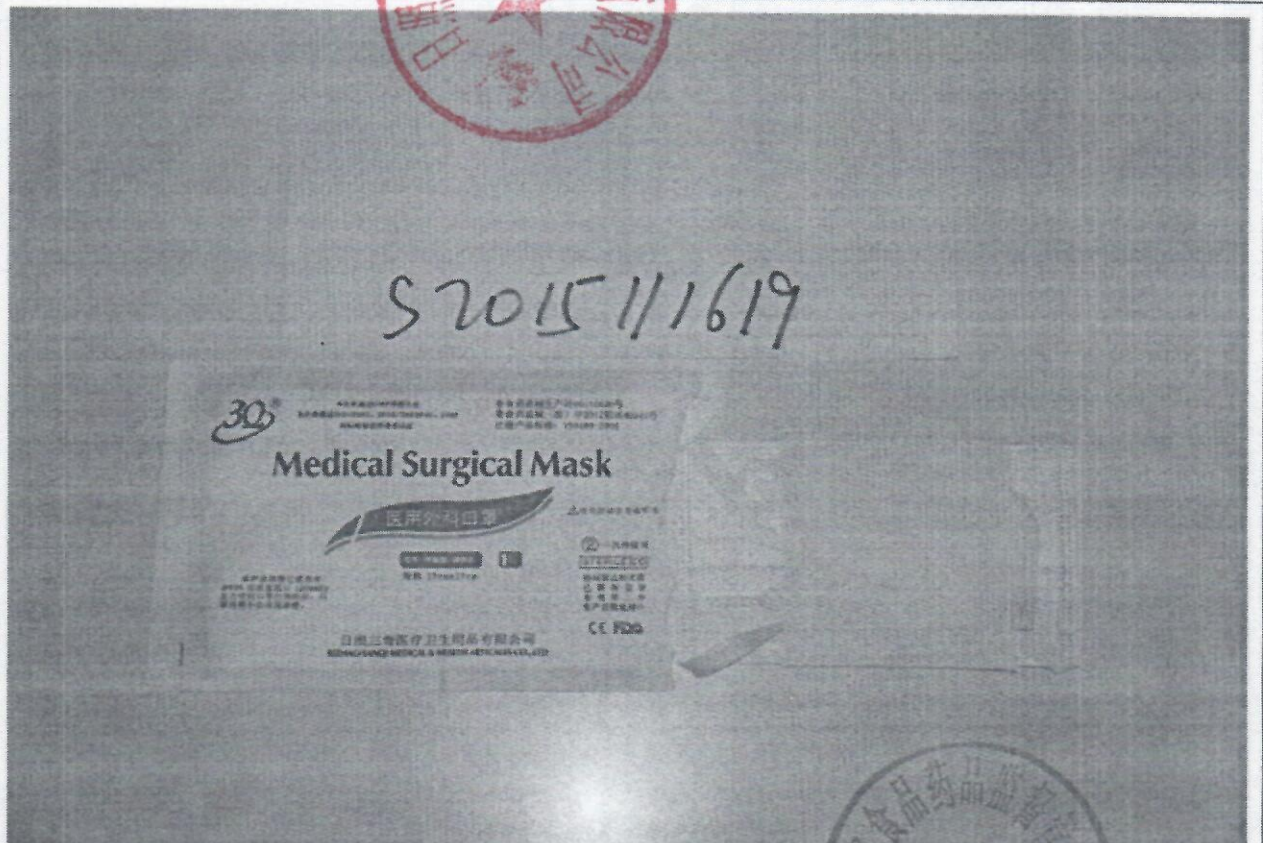
本复印件有效期至2020年6月21日，
仅限于国药集团内部使用，网络展示无效。

国家食品药品监督管理局济南医疗器械质量监督检验中心

生物学试验样品照片页

报告编号: S2015111619

照片和说明



样品描述

/

型号规格或其它说明

17cm×17cm 平面型

本复印件有效期至2020年6月21日，
仅限于国药集团内部使用，网络展示无效。