



中国认可
国际互认
检测
TESTING
CNAS L13034



皮肤致敏试验

豚鼠最大剂量法

最终报告



报告查询

报告编号: CSTBB21031167
样品名称: 医用擦手纸
参考方法: GB/T 16886.10-2017

委托单位

苏州维洁尔医疗科技有限公司

苏州市相城区阳澄湖镇石田路3号

检测机构

中检华通威国际检验（苏州）有限公司

苏州工业园区若水路388号G栋101室

中检华通威国际检验（苏州）有限公司

地址：中国 江苏省苏州工业园区若水路388号G栋101室 电话：0512-87657288 传真：0512-87657288

目录

说明.....	3
试验摘要.....	4
1.0 目 的.....	6
2.0 参考标准.....	6
3.0 样品和对照.....	6
4.0 试验系统确认.....	6
5.0 饲养与护理.....	7
6.0 试验设备与试剂.....	7
7.0 试验设计.....	7
8.0 结果观察.....	10
9.0 评估标准.....	10
10.0 测试结果.....	10
11.0 结 论.....	10
12.0 记录储存.....	10
13.0 保密协议.....	10
14.0 方案修订/偏离.....	10

说明

1. 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。
2. 检测报告涂改或无检验检测章无效。
3. 检测报告无编制人、审核人及签发人签字无效。
4. 送样委托检验, 本检验机构只对所检样品检测项目的检测结果负责。
5. 未经本检验检测机构同意, 不得部分复制本报告。



试验摘要

本试验按照 GB/T 16886.10-2017 的方法要求,使用豚鼠最大剂量试验法观察供试物品的潜在皮肤致敏作用。

在本试验中,使用 0.9 %氯化钠注射液和芝麻油浸提样品,于 37 °C、60 rpm 恒温培养摇床浸提 72 小时。同样条件制备阴性对照溶液。将配制好的浸提液与弗氏完全佐剂混合成稳定性乳化剂,在每只动物去毛的肩胛骨内侧部位皮内注射乳化剂进行皮内诱导和局部诱导。局部诱导后 14 天,在诱导阶段未试验部位进行激发试验。激发后 24 小时和 48 小时,在全光谱光线下分别观察供试品组和对照组动物激发部位皮肤反应情况,按 Magnusson 和 Kligman 分级标准对每一激发部位的皮肤红斑和水肿反应进行评分。

结果显示,阴性对照组(0.9 %氯化钠注射液与芝麻油)中动物在试验过程中,皮肤完好,未出现皮肤红斑和水肿反应。阳性对照组(DNCB)动物出现明显皮肤红斑和水肿反应。供试品浸提液组动物皮肤完好,未出现皮肤红斑和水肿反应。各组数据符合验收标准,本次试验结果有效。

基于以上结果可得出结论:在本试验条件下,供试样品在致敏试验中没有皮肤致敏作用。

1.0 目的

采用豚鼠最大限度试验，评价样品的皮肤致敏反应。该试验系统用豚鼠来检测表面接触引起的接触性致敏反应，并类推到人类，但试验结果并不代表样品真正的致敏危险性。

2.0 参考标准

医疗器械生物学评价 第2部分：动物福利要求（GB/T 16886.2-2011）

医疗器械生物学评价 第10部分：刺激与皮肤致敏试验（GB/T16886.10-2017）

医疗器械生物学评价 第12部分：样品制备与参照样品种（GB/T 16886.12-2017）

3.0 样品和对照

组别	试验样品	阴性对照样品 (极性)	阴性对照样品 (非极性)	阳性对照样品
名称	医用擦手纸	0.9%氯化钠注射液 (SC)	芝麻油 (SO)	2,4-二硝基氯苯 (DNCB)
制造商	苏州维洁尔医疗科 技有限公司	广西裕源药业有限 公司	吉安市青原区绿源 天然香料油提炼厂	TOKYO CHEMICAL INDUSTRY CO., LTD
规格	30*40cm	500 ml	5L	25 g
型号	/	/	/	/
批号	20210302	H20120305	20200528	H2UKD-DM
试验样品材料	纸	/	/	/
性状	固体	液体	液体	固体
颜色	白色	无色	浅黄色	淡黄色
包装材料	纸盒	/	/	/
灭菌状态	未灭菌	/	/	/
浓度	/	0.9 %	/	诱导浓度：0.1 % 激发浓度：0.05 % 溶剂为乙醇
表面积或重量	未提供	/	/	/
保存条件	室温	室温	室温	室温

备注说明：试验样品信息是由样品委托单位提供。

4.0 试验系统确认

4.1 试验动物

种属：豚鼠（天竺鼠）

数量：30（试验组 20 只、对照组 10 只）

性别：雌雄不限

试验初体重：300.0~500.0 g

健康状况：健康未使用过的动物，雌性未产且无孕。

动物鉴别：耳标

笼子：塑料笼子

适应期：在实验环境下 7 天

4.2 试验系统确认

在致敏试验研究中，豚鼠被认为是最敏感的动物模型，且历史上一直用于致敏研究。该试验采用 2,4-二硝基氯苯（DNCB）作为阳性已在本公司得到试验证实。为确保阳性对照灵敏度，阳性对照每三个月进行一次。

5.0 饲养与护理

动物来源：无锡恒泰实验动物养殖有限公司，许可证号：SCXK（苏）2020-0003

垫料：玉米芯垫料，江苏省协同医药生物工程责任有限公司

饲料：实验维持豚鼠饲料，江苏省协同医药生物工程责任有限公司

水：自来水（符合 GB 5749-2006 卫生标准）

室温：18-26 °C

相对湿度：30 %-70 %

光照：每天需要 12 小时光照，全光谱日光灯

人员：检测人员有相应检测资质

选择：选择健康未使用过的动物

食物、水、垫料中无干扰试验数据污染物存在。

6.0 试验设备与试剂

6.1 试验设备

恒温水浴摇床（SHB006，校准日期：2021/03/11）、电子精密天平（SHB017，校准日期：2021/03/11）

6.2 试剂

弗氏完全佐剂（来源：SIGMA，批号：SLCC3348）、十二烷基硫酸钠（来源：Solarbio，批号：1019Y032）

7.0 试验设计

7.1 样品制备

按下表比例（样品：浸提液体积）浸提样品，于 37 °C、60 rpm 恒温培养摇床浸提 72 小时。同样条件制备对照溶液。

取样			惰性容器内无菌浸提				
试验阶段	取样方式	实际取样	取样比例	浸提液		浸提条件	浸提液 pH 值
皮内诱导阶段 I	随机	2.0 g	0.1 g: 1 ml	SC	20.0 ml	37 °C, 72 h	5.5
		2.0 g		SO	20.0 ml		/
局部诱导阶段 II	随机	2.0 g	0.1 g: 1 ml	SC	20.0 ml	37 °C, 72 h	5.5
		2.0 g		SO	20.0 ml		/
激发阶段	随机	2.0 g	0.1 g: 1 ml	SC	20.0 ml	37 °C, 72 h	5.5
		2.0 g		SO	20.0 ml		/

诱导和激发阶段浸提都是按试验周期制备的。观察浸提前后浸提液状态无肉眼可见改变。浸提液使用前未经过 pH 值调整、过滤、离心、稀释等处理过程。提取液清澈，且 pH 值未经过调整、过滤、离心、稀释等工艺处理。在相同的条件下配制对照溶液。浸提液浸提结束后观察。浸提液在室温下保存不超过 24 小时，浸提前后浸提液无微粒悬浮物或颜色改变，浸提液 pH 值未发生改变，浸提液浸提结束 pH 为 5.5，浸提液状态见下表：

试验阶段	浸提介质	观察时间	组别	浸提液状态		
				颜色	是否澄清	是否有颗粒
皮内诱导阶段 I	极性	浸提前	试验样品组	无色	澄清	无
			阴性对照组	无色	澄清	无
		浸提后	试验样品组	无色	澄清	无
			阴性对照组	无色	澄清	无
	非极性	浸提前	试验样品组	淡黄色	澄清	无
			阴性对照组	淡黄色	澄清	无
		浸提后	试验样品组	淡黄色	澄清	无
			阴性对照组	淡黄色	澄清	无
局部诱导阶段 II	极性	浸提前	试验样品组	无色	澄清	无
			阴性对照组	无色	澄清	无
		浸提后	试验样品组	无色	澄清	无
			阴性对照组	无色	澄清	无
	非极性	浸提前	试验样品组	淡黄色	澄清	无
			阴性对照组	淡黄色	澄清	无
		浸提后	试验样品组	淡黄色	澄清	无
			阴性对照组	淡黄色	澄清	无

激发阶段	极性	浸提前	试验样品组	无色	澄清	无
			阴性对照组	无色	澄清	无
		浸提后	试验样品组	无色	澄清	无
			阴性对照组	无色	澄清	无
	非极性	浸提前	试验样品组	淡黄色	澄清	无
			阴性对照组	淡黄色	澄清	无
		浸提后	试验样品组	淡黄色	澄清	无
			阴性对照组	淡黄色	澄清	无

7.2 试验方法

7.2.1 皮内诱导阶段I

按图 1 所示(A、B 和 C), 在每只动物去毛的肩胛骨内侧部位成对皮内注射 0.1 mL。

部位 A: 弗氏完全佐剂与选定的溶剂以 50:50 (V/V) 比例混合的稳定性乳化剂。

部位 B: 动物分别注射试验样品浸提液或阴性对照液。

部位 C: 试验样品(部位 B 中采用的浓度), 以 50:50 的体积比例与弗氏完全佐剂与溶剂(50%)配制成的乳化剂混合后进行皮内注射; 对照组动物注射对照液与佐剂配制成的乳化剂。

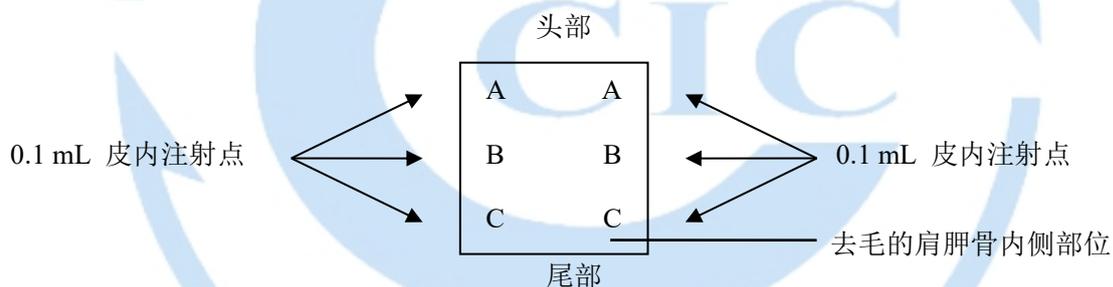


图 1 皮内注射点

7.2.2 局部诱导阶段II

皮内诱导阶段后(7±1)d, 去除每只动物的试验区被毛, 在激发前(24±2)h, 用 10% 十二烷基硫酸钠(SDS)处理。在注射部位将 SDS 按摩导入皮肤产生轻微的急性炎症反应。该部位不敷贴。SDS 处理后第 2 天, 用纱布轻轻清除残留的 SDS。试验组按部位 B 中选定的浓度, 采用面积约 8 cm² 的敷贴片(滤纸或吸收性纱布块)在新鲜制备的样品浸提液浸透后局部贴敷于每只动物的肩胛骨内侧部位, 覆盖诱导注射点。用封闭式包扎带固定敷贴片, 并于(48±2)h 后除去包扎带和敷贴片。对照组动物用相应对照溶液同法操作。

7.2.3 激发阶段

激发前 1 天, 去除动物一侧腹背部的被毛。于局部诱导阶段后(14±1)d, 将滤纸或吸收性纱布块分别置于试验样品浸提液和对照液中浸透, 分别贴敷于每只动物的腹背部去毛区(诱导阶段未试验部位)。用封闭式包扎带固定, 并于(24±2)h 后除去包扎带和敷贴片。

8.0 结果观察

除去样品后(24±2) h 和(48±2) h, 分别观察供试品组和对照组动物激发部位皮肤情况, 在全光谱光线下观察皮肤反应。按表 1 Magnusson 和 Kligman 分级标准对每一激发部位和每一观察时间皮肤红斑和水肿进行描述并分级。

表 1 Magnusson 和 Kligman 分级

贴敷试验反应	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
重度红斑和水肿	3

9.0 评估标准

按表 1 Magnusson 和 Kligman 分级标准, 如果对照组动物等级小于 1, 而试验组中等级大于或等于 1 时一般提示致敏。

如对照组动物等级大于或等于 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。

试验结果显示为试验和对照动物中的阳性激发结果的发生率。

10.0 测试结果

试验期间, 试验样品组与阴性对照组豚鼠未出现死亡及其他异常情况。皮肤评分结果见表 2。

11.0 结 论

试验结果发现, 该试验品未引起豚鼠皮肤致敏反应。本试验结果和结论仅适用于本测试样品。

12.0 记录储存

所有与本次试验有关的原始数据和记录都被保存在中检华通威的档案文件中。

13.0 保密协议

签订检测委托合同即认为双方接受保密协议。

14.0 方案修订/偏离

在本试验过程中, 没有发生任何方案修订或者偏离。

表 2 豚鼠致敏皮肤反应

组别	编号	试验前体重(g)	最终体重(g)	去除贴敷后 24h 观察结果		去除贴敷后 48h 观察结果		阳性率	
				红斑	水肿	红斑	水肿		
极性	试验 样品组	1	312.2	372.2	0	0	0	0	0%
		2	316.5	374.8	0	0	0	0	
		3	307.4	367.8	0	0	0	0	
		4	309.7	365.0	0	0	0	0	
		5	308.4	363.8	0	0	0	0	
		6	307.7	368.9	0	0	0	0	
		7	313.2	374.8	0	0	0	0	
		8	305.6	362.4	0	0	0	0	
		9	305.5	365.1	0	0	0	0	
		10	306.3	369.7	0	0	0	0	
	阴性 对照组	11	317.6	376.2	0	0	0	0	0%
		12	318.4	377.5	0	0	0	0	
		13	312.2	374.0	0	0	0	0	
		14	306.3	362.4	0	0	0	0	
		15	302.5	365.5	0	0	0	0	
非极性	试验 样品组	16	317.5	377.3	0	0	0	0	0%
		17	313.9	375.0	0	0	0	0	
		18	315.6	376.2	0	0	0	0	
		19	316.7	378.6	0	0	0	0	
		20	303.1	361.5	0	0	0	0	
		21	307.8	366.3	0	0	0	0	
		22	308.9	367.6	0	0	0	0	
		23	318.7	378.3	0	0	0	0	
		24	314.3	375.0	0	0	0	0	
		25	305.4	361.2	0	0	0	0	
	阴性 对照组	26	312.7	378.3	0	0	0	0	0%
		27	308.2	367.7	0	0	0	0	
		28	309.1	368.3	0	0	0	0	
		29	303.1	364.4	0	0	0	0	
		30	305.0	366.5	0	0	0	0	

表 3 阳性对照组

组别	编号	试验前 体重(g)	试验后 体重(g)	去除贴敷后 24h 观察结果		去除贴敷后 48h 观察结果		阳性率
				红斑	水肿	红斑	水肿	
试验组	1	307.6	367.8	1	0	1	1	100%
	2	309.6	371.7	1	1	2	1	
	3	311.8	370.6	1	0	1	0	
	4	304.4	362.3	1	1	2	1	
	5	318.3	378.6	1	0	2	1	
	6	306.1	363.0	1	1	1	2	
	7	310.5	369.1	1	1	1	0	
	8	303.2	358.0	2	1	3	2	
	9	305.2	366.9	2	0	1	0	
	10	317.4	382.0	1	0	2	1	
对照组	11	316.3	375.1	0	0	0	0	—
	12	314.8	373.2	0	0	0	0	
	13	307.6	369.7	0	0	0	0	
	14	315.7	378.3	0	0	0	0	
	15	304.6	367.7	0	0	0	0	

阳性对照试验编号: CSTBB2103001P1 (完成日期: 2021-03-26)