

推荐性国家标准项目建议书

中文名称	眼科光学 接触镜和接触镜护理产品 接触镜结合接触镜护理液评价接触镜和护理液相互作用的细胞毒性试验		
英文名称	Ophthalmic optics — Contact lenses and contact lens care products — Cytotoxicity testing of contact lenses in combination with lens care solution to evaluate lens/solution interactions		
制定/修订	☒ 制定 ☐ 修订	被修订标准号	
采用国际标准	☐ 无 ☒ ISO ☐ IEC ☐ ITU ☐ ISO/IEC ☐ ISO 确认的标准	采用程度	☒ 等同 ☐ 修改 ☐ 非等效
采标号	ISO 18189:2016, IDT	采标名称	Ophthalmic optics — Contact lenses and contact lens care products — Cytotoxicity testing of contact lenses in combination with lens care solution to evaluate lens/solution interactions
标准类别	☐ 安全 ☐ 卫生 ☐ 环保 ☐ 基础 ☒ 方法 ☐ 管理 ☐ 产品 ☐ 其他		
ICS	11.040.70		
上报单位	国家药品监督管理局		
技术归口单位 (或技术委员会)	全国医用光学和仪器标准化分技术委员会 (SAC/TC103/SC1)		
主管部门	国家药品监督管理局		
起草单位	浙江省医疗器械检验研究院		
项目周期	☐ 12 个月 ☒ 16 个月		
是否采用快速程序	☐ 是 ☒ 否	快速程序代码	☐ B1 ☐ B2 ☐ B3 ☐ B4 ☐ C3
经费预算说明	经费预算：总预算：35 万元（资料费：3 万，设备费：8 万，试验验证费 12 万，差旅费：3.5 万，会议费：2 万，劳务费：1 万，专家咨询费：3 万，公告费、印刷费：1 万，宣传推广费：1 万，其他费用：0.5 万），其中国拨补助经费 15 万，自筹经费 20 万。		

目的、意义	ISO 18189:2016 《Ophthalmic optics — Contact lenses and contact lens care products — Cytotoxicity testing of contact lenses in combination with lens care solution to evaluate lens/solution interactions》(眼科光学 接触镜及接触镜护理产品 接触镜结合接触镜护理液评价接触镜和护理液相互作用的细胞毒性试验)于 2016 年 6 月发布, 针对 ISO 18189:2016 提出的接触镜及接触镜护理液的细胞毒性评价方法, 有必要进行转化, 与国际标准的要求同步。国家标准《眼科光学 接触镜及接触镜护理产品 接触镜结合接触镜护理液评价接触镜和护理液相互作用的细胞毒性试验》计划等同采用 ISO 18189:2016 国际标准。
范围和主要技术内容	本文件规定了用于评价接触镜与接触镜护理液相互作用可产生的潜在细胞毒性作用的一种体外试验方法。 本文件适用于接触镜与接触镜护理液产品。
国内外情况简要说明	目前, 除本文件转化的国际标准 ISO 10936-1:2017 Optics and Photonics-Operation Microscopes Part 1: Requirements and Test Methods (光学和光子学 手术显微镜 第 1 部分: 要求和试验方法) 外, 国外相关标准还有 BS ISO 10936-1:2017 Optics and Photonics-Operation Microscopes Part 1: Requirements and Test Methods (光学和光子学 手术显微镜 第 1 部分: 要求和试验方法)、DS/ISO 10936-1:2017 Optics and Photonics-Operation Microscopes Part 1: Requirements and Test Methods (光学和光子学 手术显微镜 第 1 部分: 要求和试验方法), 英国标准 BS ISO 18189:2016、丹麦标准 DS/ISO 18189:2016 与 ISO 18189:2016 标准完全相同。 国内尚无相关标准。
有关法律法规和强制性标准的关系	与有关法律法规和强制性标准无冲突
标准涉及的产品清单	标准主要涉及到的产品为接触镜和接触镜护理液。根据国家药品监督管理局公布的信息, 现行有效注册证共有 743 个, 具体注册产品清单见附件

是否有国家级科研项目支撑	☐ 是 ☒ 否	科研项目编号及名称	
是否涉及专利	☐ 是 ☒ 否	专利号及名称	
是否由行标或地标转化	☐ 是 ☒ 否	行地标标准号及名称	
备注	审议内容：项目名称、标准的效力、适用范围和主要技术内容、第一起草单位。 技术委员会委员 45 人/参与投票人数 44 人/赞成票数 44 人		

填写说明：

1. 非必填项说明

- 1) 采用国际标准为“无”时，“采用程度”、“采标号”、“采标名称”无需填写；
- 2) 不采用快速程序，“快速程序代码”无需填写；
- 3) 无国家级科研项目支撑时，“科研项目编号及名称”无需填写；
- 4) 不涉及专利时，“专利号及名称”无需填写；
- 5) 不由行地标转化时，“行地标标准号及名称”无需填写。

2. 其它项均为必填。其中经费预算应包括经费总额、国拨经费、自筹经费的情况，并需说明当国家补助经费达不到预算要求时，能否确保项目按时完成。

3. ICS 代号可从委网站公布的“ICS 分类号”文件中获得，下载地址

为：<http://www.sac.gov.cn/bsdt/xz/201011/P020130408501048214251.pdf>。

4. 备注中必须注明项目投票情况，格式为“技术委员会委员总数/参与投票人数/赞成票数”。

省级质监局申报的项目还应注明与归口技术委员会或归口单位的协调情况。



中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

眼科光学 接触镜和接触镜护理产品 接触 镜结合接触镜护理液评价接触镜和护理液 相互作用的细胞毒性试验

Ophthalmic optics — Contact lenses and contact lens care products — Cytotoxicity
testing of contact lenses in combination with lens care solution to evaluate
lens/solution interactions

(ISO 18189:2016, IDT)

草案版次选择

(本草案完成时间：)

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX – XX – XX 发布

XXXX – XX – XX 实施

国家市场监督管理总局 发布
国家标准化管理委员会

目 次

前言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 原理 1

5 接触镜与接触镜护理液结合的直接接触细胞毒性试验 1

6 结果评定 5

7 试验报告 5

附录 A（规范性） 接触镜与接触镜护理液结合的直接接触细胞毒性试验中的细胞裂解区域测量 .. 6

参考文献 8

前 言

本文件按照 GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第 1 部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件使用翻译法等同采用 ISO 18189:2016《Ophthalmic optics — Contact lenses and contact lens care products — Cytotoxicity testing of contact lenses in combination with lens care solution to evaluate lens/solution interactions》（眼科光学 接触镜及接触镜护理产品 接触镜结合接触镜护理液评价接触镜和护理液相互作用的细胞毒性试验）。

本文件中规范性使用的国际文件有一致性对应关系的我国文件如下：

——GB/T 11417.1—2012 眼科光学 接触镜 第 1 部分：词汇、分类和推荐的标识规范（ISO 18369-1: 2006, MOD）

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医用光学和仪器标准化分技术委员会（SAC/TC103/SC1）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

眼科光学 接触镜和接触镜护理产品 接触镜结合接触镜护理液评价 接触镜和护理液相互作用的细胞毒性试验

1 范围

本文件规定了用于评价接触镜与接触镜护理液相互作用可产生的潜在细胞毒性作用的一种体外试验方法。

本文件适用于接触镜与接触镜护理液产品。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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。

ISO 18369-1 眼科光学 接触镜 第1部分：词汇、分类系统和推荐的标识规范（Ophthalmic optics—Contact lenses—Part 1: Vocabulary, classification system and recommendations for labelling specifications）

3 术语和定义

ISO 18369-1界定的术语和定义适用于本文件。

3.1

室温

温度定义为 18 °C 至 25 °C。

4 原理

接触镜护理液中的化学物质可能通过直接接触眼部组织或通过接触镜间接接触而引起细胞毒性反应。接触镜对护理产品防腐剂或其他溶液成分的吸收以及这些化学物质随后在眼部环境中的释放可能损害眼部的生物相容性。在设计试验时宜考虑接触镜护理产品和各种接触镜材料之间的潜在相互作用，以全面评价某种新接触镜或接触镜护理产品的潜在细胞毒性。

5 接触镜与接触镜护理液结合的直接接触细胞毒性试验

5.1 概述

以下试验方案描述了评价浸泡在接触镜护理液中的接触镜的潜在细胞毒性的试验方法。细胞毒性可能来自于接触镜和接触镜护理液的相互作用。

除日抛型接触镜外，应评价新型接触镜与市售代表性多功能护理液的潜在相互作用产生细胞毒性的可能性。

为了评价新型接触镜护理液，应评价新接触镜护理液与代表性接触镜的潜在相互作用产生细胞毒性的可能性。

5.2 试验步骤

5.2.1 基本步骤

将测试的接触镜放在装于无菌相容容器的约 10 mL 接触镜护理液中，在室温下孵育 $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ 。同样地，在室温下，在相同类型的容器中，将接触镜在约 10 mL 的杜氏 PBS 缓冲液 (DPBS) 中培养 $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ ，来制备经含有 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的 DPBS 处理过的对照接触镜（“接触镜对照组”）。

就本文件而言，相容容器是指几乎不吸收消毒剂和/或防腐剂的容器。用接触镜护理产品润洗容器可用于减少容器的吸收。

在浸泡 $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ 之后，可以以风车方式切割接触镜（大约在接触镜的 1/3 至 1/2 处切 3 至 4 刀）并立即用于细胞毒性试验。如果不切开接触镜，应以凹入的方式放置在细胞上。将每片接触镜置于直径为 60 mm 的组织培养板中细胞表面的中心，该培养板中含有半汇合单层 L-929 细胞，培养于含 5% 胎牛血清 (FBS) 的 1.6 mL 基本成分培养基 (MEM) 中。

同样，阴性和阳性对照被放置在指定的直径为 60 mm 的组织培养板中，该培养板中含有半汇合单层 L-929 细胞，培养于含 5% FBS 的 1.6 mL MEM 中。

将组织培养板在 $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ， $5\% \pm 1\% \text{ CO}_2$ 中培养 $24\text{ h} \pm 2\text{ h}$ 。

培养结束后，将接触镜和对照组从每个培养板中取出，用台盼蓝对细胞进行染色，以方便观察死亡或受损细胞。细胞毒性的评价是通过评估测试品和对照品周围细胞在肉眼和显微镜下（100 倍）是否有任何异常的细胞形态以及裂解，并确定裂解区（如果有的话）。

5.2.2 材料

5.2.2.1 细胞系

L-929 细胞[NCTC 克隆 929: CCL 1, 美国典型培养物保藏中心(ATCC), 美国弗吉尼亚州马纳萨斯; ECACC No. 88102702 或等同物, 欧洲细胞培养物保藏中心, 英国威尔特郡索尔兹伯里, 邮编 SP4 0JG]。细胞培养物应不含支原体。

用于试验的细胞的传代数宜在 10~30 代以内。

5.2.2.2 仪器

仪器包含以下内容：

- a) 培养箱， $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ，加湿， $5\% \pm 1\% \text{ CO}_2$ /空气；
- b) 生物安全柜；
- c) 水浴， $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ ；
- d) 倒置相差显微镜；
- e) 实验用燃烧器；
- f) 离心机；
- g) 实验用天平；
- h) 细胞计数器或血细胞计数器；
- i) 组织培养瓶和直径 60 mm 的组织培养板；
- j) 移液器；
- k) 移液管。

5.2.2.3 化学品、培养基和血清

化学品、培养基和血清包含以下内容：

- a) 伊格尔氏基本成分培养基（MEM）；
- b) 胎牛血清（FBS）；
- c) 胰蛋白酶/EDTA 溶液；
- d) 含有 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 的杜氏 PBS 缓冲液（DPBS）；
- e) 青霉素/链霉素溶液；
- f) 台盼蓝。

5.2.3 测试样品的制备

接触镜宜用镊子无菌拿取。在室温下，将每个接触镜单独浸泡在无菌相容容器中的约 10 mL 适当接触镜溶液中 $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ ，同时轻轻搅拌（在振荡器上以约 50 r/min 的速度持续搅拌）。宜遵循无菌操作流程。

每个接触镜在浸泡 24 h 后可以立即以风车方式切割（在接触镜的 1/3 到 1/2 处切 3 到 4 刀）。接触镜以垂直方式固定，接触镜边缘轻轻拍打在无菌纱布上去除多余的液体并立即用于细胞毒性测试。如果接触镜没有被切割，它应以凹入的方式放置在细胞上。细胞毒性试验方法见 5.2.4.3。

5.2.4 方法

5.2.4.1 概述

细胞宜使用常规细胞培养方法进行维持和培养。

5.2.4.2 试验质量检查：阳性对照、阴性对照和接触镜对照

5.2.4.2.1 概述

每组试验都应包括阳性对照、阴性对照和接触镜对照。

5.2.4.2.2 阳性对照

建议使用乳胶手套作为阳性对照。应在每个指定的阳性对照组织培养板中的细胞上放置一块 $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$ 的样品进行试验。也可以使用其他经过验证的阳性对照。

5.2.4.2.3 阴性对照

推荐使用高密度聚乙烯（HDPE）（厚度 0.5 mm）作为阴性对照。应在每个指定的阴性对照组织培养板中的细胞上放置一块 $1 \text{ cm} \times 1 \text{ cm}$ 的样品进行试验。也可以使用其他经过验证的阴性对照。

5.2.4.2.4 接触镜对照

应将浸泡在 DPBS 中的被测接触镜用作接触镜对照。接触镜宜用镊子无菌拿取。将每个接触镜单独浸泡在无菌相容容器中的约 10 mL DPBS 溶液中 $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ ，并在室温下轻轻搅拌（在振荡器上以约 50 r/min 的速度持续搅拌）。宜遵循无菌操作程序。

每个接触镜可以在浸泡 $24 \text{ h} \pm 2 \text{ h}$ 后立即以风车方式切割（在镜片的 1/3 到 1/2 处切 3 到 4 刀）。镜片以垂直方式固定，镜片边缘轻轻拍打在无菌纱布上去除多余的液体并立即用于细胞毒性试验。如果镜片没有被切割，它应以凹入的方式放置在细胞上。细胞毒性试验方法见 5.2.4.3。

5.2.4.2.5 试验有效条件

如果一项试验被认为是有效的，应满足以下条件：

- a) 阴性对照在所有四个孔板中的等级应 ≤ 1 ；

- b) 接触镜对照在所有四个孔板中的等级应≤1;
 - c) 阳性对照在所有四个孔板中的等级应≥3。
- 对反应等级的描述见表1。

5.2.4.3 具体步骤

- 5.2.4.3.1 将 L-929 细胞以每板约 6×10^5 个细胞的密度接种到 60 mm 直径组织培养板中，置于 6 mL 含 5% FBS 的 MEM 培养基中，在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 及 $5\%\pm1\%\text{ CO}_2$ 环境下培养约 24 h，以在使用前获得半汇合单层细胞。如果 MEM 培养基中使用了抗生素，宜记录在工作表中。
- 5.2.4.3.2 在开始试验前，应在显微镜下（100×）验证培养物的半汇合性（约 80%）和形态。每个测试品和对照品都应在四份培养物中培养（即带有细胞的 4 个 60 mm 培养板）。每个板中应只放置一个测试品/对照品部分。
- 5.2.4.3.3 将每个板中的培养基丢弃并用 1.6 mL MEM 代替。
- 5.2.4.3.4 将试验品/对照品放在指定培养板中细胞表面的中心。
- 将已在 10 mL 接触镜溶液中浸泡 $24\text{ h}\pm2\text{ h}$ 并可已按照 5.2.3 中所述以风车方式切割的接触镜，放置在四个 60 mm“待测样品”组织培养板上的细胞表面中心。
- 将 $1\text{ cm}\times1\text{ cm}$ 的乳胶（阳性对照）放置在四个 60 mm“阳性对照”组织培养板的细胞表面中心。
- 将 $1\text{ cm}\times1\text{ cm}$ 的 HDPE（阴性对照）放置在四个 60 mm“阴性对照”组织培养板的细胞表面中心。
- 将已在 10 mL DPBS 溶液中浸泡 $24\text{ h}\pm2\text{ h}$ 并可已按照 5.2.4.2.4 中所述以风车方式切割的接触镜，放置在四个 60 mm“接触镜对照”组织培养板的细胞表面中心。
- 为了帮助评价试验品/对照品的移动，宜在每个板的底部在试验品/对照品的大致中心位置用一个点来标记。
- 5.2.4.3.5 培养板在 $37\text{ }^{\circ}\text{C}\pm1\text{ }^{\circ}\text{C}$ ， $5\%\pm1\%\text{ CO}_2$ 条件下培养 $24\text{ h}\pm2\text{ h}$ 。
- 在处理过程中宜格外小心以尽量减少接触镜的移动，因为可能会对细胞造成物理损伤。此外，如果接触镜没有留在原位，则难以准确测量接触镜周围的反应区。
- 5.2.4.3.6 培养结束后，从每个板中取出接触镜和对照品，并用 1.6 mL 含 0.4%台盼蓝的 DPBS 替换每个板中的培养基以染色死细胞。
- 为了便于测量样品以外的裂解区域，在从板中取出试验品和对照品之前，宜在板底部标记试验品和对照品边缘的位置。
- 5.2.4.3.7 在室温下将细胞暴露在台盼蓝溶液中约 2 min。
- 5.2.4.3.8 去除台盼蓝溶液并用 1.6 mL DPBS 冲洗细胞。
- 5.2.4.3.9 用肉眼和显微镜（100×）检查细胞是否有异常的细胞形态和试验物周围的裂解情况，并确定裂解区域（若有）。台盼蓝有助于观察死亡或受损细胞；膜损伤和死细胞会吸收台盼蓝，因为它是一种排斥染料。与阴性对照和接触镜对照板上的细胞相比，死亡或膜受损的细胞会呈现蓝色。
- 5.2.4.3.10 使用表 1 中描述的标准评价细胞毒性。如果观察结果大于 2 级，则被认为是具有细胞毒性作用。有关如何测量细胞裂解区的指南，请参见附录 A。

表1 反应性等级

等级	反应性	所有细胞培养物的情况
0	无	试样周围或下方没有检测到反应的区域
1	轻微	试样下方有部分畸形或退化细胞
2	轻度	反应区域仅限于试样下方区域
3	中度	试样以外的反应区域，可超出试样至多 10 mm
4	严重	反应区域超出试样以外 10 mm

6 结果评定

结果的总体评定应由能够根据试验数据做出明智决定的人员进行。任何细胞毒性作用都可能被关注。然而该结果主要是表明潜在的体内毒性，不能仅根据细胞毒性数据确定该装置不适于特定的临床应用。细胞毒性数据应根据其他生物相容性数据和产品的预期用途进行评价。

7 试验报告

试验报告应至少包括以下信息：

- a) 试验机构名称和地址；
- b) 试验操作者姓名；
- c) 试验开始和结束日期；
- d) 遵守适当良好实验室规范的声明；
- e) 试验品和所有对照品的名称和完整描述；
- f) 细胞系、传代数和细胞来源；
- g) 培养基、血清和抗生素（如添加）的公司名称和批次；
- h) 试验方法；
- i) 细胞反应和其他观察结果；
- j) 结果评定所需的任何其他相关数据。

附 录 A
(规范性)

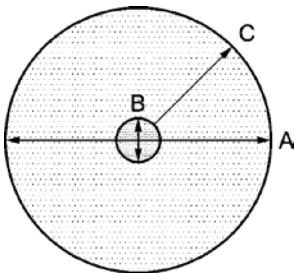
接触镜与接触镜护理液结合的直接接触细胞毒性试验中的细胞裂解区域测量

A.1 培养板布局

图 A.1 描述了培养板的布局。其中较大的圆圈描绘了直径为 60 mm 的孔板。例如，假设置于孔板上的样品的直径约为 10 mm（图 A.1 中的小圆圈），这使得从样品的边缘到孔板的边缘在任何方向都有约 25 mm 的长度。

裂解区域定义为超出样品（小圆圈）区域外的细胞裂解，如图 A.1 中的对角线 C 所示。因此，裂解区域不宜超过 25 mm。可以从样品边缘到裂解边缘进行多次测量，以确保用于评价的裂解区域是准确的。

如果裂解似乎仅在一个方向上超出接触镜之外（例如，如果接触镜在培养过程中移位或培养板略微倾斜），宜在四个方向上分别进行测量，并宜使用这些测量值的平均值来确定等级。



注：

A 60 mm 直径孔板的水平线。

B 置于孔板的约 10 mm 举例样品的垂直线。

C 显示从 10 mm 样品边缘到 60 mm 直径孔板边缘距离为约 25 mm 的对角线。

图A.1 培养板布局

A.2 0~2 级

— 0 级：无反应性。孔板中没有细胞裂解或毒性的证据。

— 1 级：轻微反应性。在放置样品的区域（图 A.1 中的小圆圈）下方有一些（部分）细胞裂解或毒性的证据。

— 2 级：轻度反应性。在放置样品的区域（图 A.1 中的小圆圈）下方有全部（完全）细胞裂解或毒性的证据。

在确定 1 级或 2 级时，该毒性应仅出现在样品（图 A.1 中的小圆圈）下方。这也意味着没有裂解区(0 mm)。

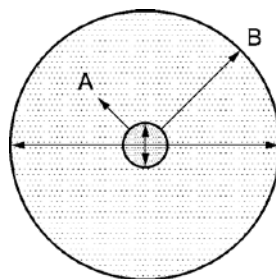
A.3 3~4 级

一旦裂解超出了样品放置在孔板中的区域（超出图 A.1 和图 A.2 中的小圆圈进入大圆圈区域），就会存在一个裂解区域。

不超过 10 mm 的裂解区域为 3 级（图 A.2 中左上角的对角线 A 代表 10 mm）。

大于 10 mm 的裂解区域为 4 级（超出图 A.2 中左上角的对角线 A）。

可能的最大裂解区域约为 25 mm（图 A.2 中右上角的对角线 B）。



注：

A 代表 10 mm 裂解区域的对角线。

B 代表最大可能裂解区域约为 25 mm 的对角线。

图A.2 3级和4级的示意图

参 考 文 献

- [1] ISO 10993-1 Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process
- [2] ISO 10993-5 Biological evaluation of medical devices — Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity
- [3] ISO/IEC 17025 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories
- [4] OECD 1997 OECD Principles of Good Laboratory Practice, No.1