

《组织工程医疗器械 丝素蛋白》

标准编制说明

一、工作简况

1、任务来源

按照国家药监局综合司关于印发 2022 年医疗器械行业标准制修订计划项目的通知（药监综械注（2022）47 号）的有关规定和要求，标准计划项目《组织工程医疗器械 丝素蛋白》（项目编号：N2022100-T-zjy）由全国外科植入物和矫形器械标准化技术委员会组织工程医疗器械产品分技术委员会归口，标准起草单位是浙江大学，中国食品药品检定研究院，复旦大学，浙江星月生物科技股份有限公司，复向丝泰医药科技(苏州)有限公司，江西丝科生物科技有限公司。

2、主要工作过程

2021年度：丝素蛋白原材料标准草案的初步编制、立项申请和预研工作

2021年03月29日，组织工程医疗器械产品分技术委员会(TC110/SC3)秘书处组织了丝素蛋白原材料标准草案研讨会，浙江大学、复旦大学、浙江星月生物科技股份有限公司、复向丝泰医疗科技（苏州）有限公司、江西丝科生物科技有限公司等标准起草单位参加了会议。会上结合丝素蛋白类医疗器械的产业发展现状和国家监管需求，简单介绍了前期预研工作情况和标准立项申请的必要性与意义，并针对丝素蛋白原材料标准草案进行了逐字逐句的讨论，形成修改意见，并对其中指标设定与验证工作进行了详细分工。

2021年6月，工作组提交丝素蛋白标准草案与立项提案申请。同年8月，标准起草小组对丝素蛋白材料的研究验证工作进行了中期总结汇报。

2022年度：《组织工程医疗器械 丝素蛋白》（工作讨论稿）的内容修订、指标验证和征求意见工作

2022年2月22日，组织工程医疗器械产品分技术委员会召开“胶原蛋白”等行业标准草案制修订工作启动会及研讨会，《组织工程医疗器械 丝素蛋白》（工作讨论稿）标准验证工作正式启动。2月28日，组织工程医疗器械产品分技术委员会（TC110/SC3）秘书处再次组织研讨会，浙江大学、中国食品药品检定研究院、复旦大学、浙江星月生物科技股份有限公司

司、复向丝泰医疗科技（苏州）有限公司、江西丝科生物科技有限公司共六家标准起草单位参加了会议。会上对《组织工程医疗器械 丝素蛋白》（工作讨论稿）进行了逐字逐句的讨论，形成第二次修改意见，并依据修改后的标准草案内容与指标，布置了“3月底完成资料验证，4月开始验证实验，5月底完成验证工作”的任务。在验证过程中，工作组于4月27日再次召开丝素蛋白标准讨论会，会上各家单位就验证情况进行汇报，并就验证结果再次讨论、完善《组织工程医疗器械 丝素蛋白》（工作讨论稿）中的相关表述和指标，同时明确了后期需要进一步补充或完善的验证内容。各验证单位于2022年5月31日，完成标准的验证工作，形成验证报告初稿。

2022年6月20日，标准起草小组再次召开标准起草研讨和征求意见稿定稿会，根据前期各单位验证结果，讨论并达成共识，完善《组织工程医疗器械 丝素蛋白》（工作组讨论稿），形成了《组织工程医疗器械 丝素蛋白》征求意见稿。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的依据

1. 本标准按照 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。

2. 标准主要内容的确定依据。

2.1 性状。丝素蛋白的颜色通常为白色或淡黄色，无臭无味。丝素蛋白随着存放时间的延长受到氧化作用，或在制备、存储过程中因污染而变色、产生异味。因此有必要检验其性状，以初步判断丝素蛋白是否发生了改变。因此，规定“脱丝胶处理获得的天然丝素蛋白纤维应为白色或淡黄色固体。再生丝素蛋白可形成白色或淡黄色或无色的固体（纤维、粉末，或海绵、膜、块材等）、溶液或水凝胶等，无臭无味。”

2.2 分子量。再生丝素蛋白分子量分布在 10 kDa~400 kDa 之间。再生丝素蛋白分子量的分布情况受溶解体系、溶解时间等多方面的影响，可以一定程度上反映其生产、制备工艺的合理性和稳定性，并为研究其衍生产物的性能、机理等方面提供重要依据。因此，规定“再生丝素蛋白分子量分布应在 10 kDa~400 kDa 之间”。

2.3 特征氨基酸分析。丝素蛋白作为蛋白质，主要由十八种氨基酸组成，其中甘氨酸、丙氨酸和丝氨酸三种氨基酸含量最多，三者总和占丝素蛋白总氨基酸含量的 76%以上。因此以这三种氨基酸的含量作为特征氨基酸进行分析。考虑到丝素蛋白中可能含有的杂质（脂类物质、重金属残留、试剂残留等），测试误差等，其实际纯度难以达到 100%，因此根据标准、文献和实测值，将总氨基酸含量规定为“大于 95%（质量/质量，干重）”。

2.4 傅立叶变换红外光谱 (FT-IR)。丝素蛋白中普遍存在无规卷曲、 α 螺旋、 β 折叠、 β 转角四种蛋白结构。依据相关文献报道, 丝素蛋白在酰胺 I、酰胺 II、酰胺 III 三带存在明显吸收峰, 每条带内不同数值对应着上述的四种蛋白结构, 而蛋白结构影响着丝素蛋白的性状、性能。因此有必要对丝素蛋白的红外特征峰进行检验。根据其结构特征, 规定“丝素蛋白的 FT-IR 实测谱带应在 $1700\text{ cm}^{-1}\sim 1600\text{ cm}^{-1}$, $1590\text{ cm}^{-1}\sim 1460\text{ cm}^{-1}$, 以及 $1280\text{ cm}^{-1}\sim 1190\text{ cm}^{-1}$ 处存在特征峰, 分别对应丝素蛋白的酰胺 I 带、酰胺 II 带以及酰胺 III 带”。

2.5 高级结构 (拉曼光谱)。丝素蛋白的聚集态结构有结晶态和无定形态两类。其中结晶态有两种空间构型, 分别称为 α 型和 β 型, 又称 silk I 和 silk II。silk I 呈曲柄形分子链, 由无规卷曲和螺旋构象组成; silk II 呈反平行 β -片层结构。在丝素蛋白水溶液与空气界面处存在一种称为 silk III 的有序形态, 呈三角形结构 (三螺旋链构造)。通过改变温度、溶剂极性 (如甲醇、乙醇、甲酸、二甲基甲酰胺等)、溶液 pH 和应力作用, 可使丝素蛋白从 silk I 向 silk II 转变。而通过对其高级结构的检测, 能够说明条件改变对于其构象变化的影响, 帮助企业从微观层面了解丝素蛋白, 辅助产品生产条件控制和品质把控。基于此, 规定“丝素蛋白的聚集态结构有结晶态和无定形态两类。必要时应进行相应表征”。

2.6 蛋白质含量。丝素蛋白的基本组成是蛋白质。根据 SB/T10407-2007《丝素与丝胶》要求, 丝素蛋白的氮含量应 $\geq 14.5\%$, 以 6.25 换算系数计算蛋白质含量应 $\geq 90.6\%$; 考虑到丝素蛋白作为医疗器械材料使用时, 应保证其拥有较高的纯度, 尽可能减少杂质的含量, 因此根据实测值和杂质含量分析, 将蛋白质含量规定为“应 $\geq 96\%$ (质量/质量, 干重)”。

2.7 丝胶残留。蚕丝由 $\sim 30\%$ 的丝胶蛋白 (m/m, 干重) 和 $\sim 70\%$ 的丝素蛋白 ($\sim 70\%$, m/m) 组成。天然丝素蛋白由桑蚕丝/生丝经脱丝胶工艺制得, 不同的脱胶工艺可能导致不同程度的丝胶残留, 影响丝素蛋白纯度, 因此需要对其含量测定并控制, 规定“脱胶后蚕丝纤维的丝胶残留应 $\leq 2\%$ (m/m, 干重)”。

2.8 脂类物质含量。丝素蛋白中的脂类物质主要为蜡质和其他油脂类物质, 制备过程中可能有残留, 从而影响丝素蛋白纯度, 因此需要对其含量进行检测并控制。参考类似组织工程医疗器械产品标准, YY/T 0606.6《组织工程医疗产品 第 6 部分: I 型胶原蛋白》中“脂质体 $\leq 1\%$ (m/m, 干重)”的规定, 结合过往实测值, 要求“丝素蛋白脂类物质残留量应 $\leq 0.5\%$ (m/m, 干重)”。

2.9 pH 值。人体生理环境中的 pH 是相对固定、平衡的。丝素蛋白作为医疗器械用于人体时, 过高或过低的 pH 都会对人体造成伤害。同时, 偏酸或碱性的 pH 也可能是丝素蛋白在生产或储存过程中分子结构被破坏。因此, 规定“pH 值应在 5.0~8.0 范围内”。

2.10 重金属含量。丝素蛋白与再生丝素蛋白在制备过程中可能由于试剂、溶剂等因素引入重金属，超标的重金属进入人体后不仅难以代谢，还容易在器官内富集，造成长久的损伤，最终导致机体的衰竭。因此需要对重金属的含量进行严格的监测和控制。参考类似组织工程医疗器械产品标准，YY 0954-2015《无源外科植入物-I型胶原蛋白植入剂》对重金属总量及微量元素的限值，规定“丝素蛋白重金属总含量（以Pb计）应 $\leq 10 \mu\text{g/g}$ （质量分数）；砷含量 $\leq 1 \mu\text{g/g}$ （质量分数）；铬、镉、铜、铁、汞、镍、铅、钼总量应 $\leq 50 \mu\text{g/g}$ （质量分数）”。

2.11 干燥失重。蚕丝的公认回潮率为11%。丝素蛋白脱胎于蚕丝，性质相近。当固态丝素蛋白进行干燥失重，其失重 $> 11\%$ 时，可能是其存储环境湿度过高，或在制备过程中有较多可挥发物质的残留。水含量过高也有加速丝素蛋白产品降解或加速微生物生长的风险。有必要对其进行干燥失重的检验。因此，规定固态丝素蛋白干燥后，失重“应 $\leq 11\%$ （m/m，干重）”。

2.12 炽灼残渣。丝素蛋白中可能存在一定量的非挥发性无机物杂质，影响其纯度或造成污染，因此需对其进行控制，规定“炽灼后，丝素蛋白的残渣含量应 $\leq 1.5\%$ （m/m，干重）”。

2.13 试剂残留。丝素蛋白在制备过程中需通过脱胶、溶解、透析纯化等工艺，从而引入如氯化钙、溴化锂、碳酸钠、尿素等助剂，因而需要将这些试剂残留降至一定程度。溴化锂溶解是目前制备再生丝素蛋白最常用的方法。但当人体摄入量了过高浓度的锂离子和溴离子时，会造成头晕、恶心等不良反应，长期还可能危及生命。因此需要对锂离子和溴离子浓度进行控制。参考人用药物注册技术要求国际协调会（ICH）发布的Q3D Step 4版《元素杂质指导原则》中，锂元素口服制剂的每日允许暴露量为 $550 \mu\text{g}$ 、注射剂的每日允许暴露量为 $220 \mu\text{g}$ 的要求，换算后，规定“溴化锂溶解体系制备再生丝素蛋白时，干重下单位质量溴离子应含量 $\leq 80 \text{mg/g}$ ，锂离子应含量 $\leq 2 \text{mg/g}$ ”。

环氧乙烷是高效广谱的灭菌剂之一，在医疗器械领域被广泛使用。过高的环氧乙烷残留会对人体造成严重伤害，另外，当产品本身、包装等含有氯元素的情况下，可能在灭菌过程中生成同样具有危害的2-氯乙醇。因此，有必要参考GB/T 16886.7《医疗器械生物学评价 第7部分 环氧乙烷灭菌残留量》中的相关要求对环氧乙烷残留量进行严格的控制，规定“经环氧乙烷灭菌的丝素蛋白，环氧乙烷残留量应 $\leq 10 \mu\text{g/g}$ 。必要时，还需要对2-氯乙醇的残留量进行检测”。

2.14 细菌内毒素含量。细菌内毒素是革兰氏阴性菌的细胞壁成分，会在细菌死亡或自溶后被释放，若大量进入血液时，会引发不同程度的疾病，因此需要对丝素蛋白与再生丝素蛋白中

可能含有的内毒素进行控制。其限值参考类似组织工程医疗器械产品标准，YY/T 1571-2017《组织工程医疗器械产品 透明质酸钠》和 YY/T 1699-2020《组织工程医疗器械产品 壳聚糖》相关规定，限定为 ≤ 0.05 EU/mg（干重）。

2.15 无菌。当丝素蛋白表明以无菌方式提供时，应已通过了严格的灭菌程序。若灭菌不完全或在灭菌后产品包装、存储等方面出现问题，丝素蛋白作为蛋白质，容易被细菌所污染，不仅使产品有效期缩短，若用于人体还会造成多种严重的感染。因此有必要通过无菌检查法确定灭菌效果及产品包装、存储条件的合理合规，并规定“当丝素蛋白以无菌方式提供时，无论采用何种方式灭菌，均不得检出菌落”。

2.16 微生物限度。丝素蛋白以非无菌方式提供时，根据生产洁净车间等级、工艺、材料等的不同，可能存在不同程度的微生物污染，影响丝素蛋白的使用寿命和安全性，因此有必要对微生物限度进行检测并控制。另外金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠埃希菌会产生对人体有巨大危害的毒性物质，因此不得在待测样品中被检出。规定“丝素蛋白以非无菌方式提供时，每克（g）供试品中需氧菌总数应 < 100 cfu，霉菌和酵母菌菌落数应 < 20 cfu，不得检出金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠埃希菌”。

2.17 生物学评价。丝素蛋白是人体中不存在的蛋白质，植入人体时可能引起免疫反应。因此应根据其预期的使用目的（适用时），按照 GB/T 16886.1 的相关要求对丝素蛋白进行充分的生物学评价，关注可能的免疫原性和对人体的潜在免疫毒理学风险，确保丝素蛋白的使用安全。因此，规定“宜根据丝素蛋白其预期的使用目的（适用时），对其可能的免疫原性和对人体的潜在免疫毒理学风险进行充分评价”。

3. 上述技术内容的具体指标要求，参考相关标准、研究文献和实测值制定；具体检验、研究、评价方法，给出了可引用或参考的标准文件。

三、主要实验验证情况

标准起草小组中各单位按照该标准草案稿的检测项目和推荐的检测方法对丝素蛋白（包括天然丝素蛋白纤维与再生丝素蛋白）开展验证工作，生产企业提供验证样品，并与检验单位共同对标准中各条款进行验证，最后由生产企业出具验证报告。

参与验证的生产企业为浙江星月生物科技股份有限公司（以下简称“星月生物”）、复向丝泰医疗科技（苏州）有限公司（以下简称“复向丝泰”）和江西丝科生物科技有限公司（以下简称“江西丝科”），检验单位为中国食品药品检定研究院（以下简称“中检院”），浙江大学（以下简称“浙大”），复旦大学（以下简称“复旦”）。

具体验证情况如下：

1. 性状：星月生物、复向丝泰和江西丝科三家生产企业通过直接观测的方式检验丝素蛋白性状，结果均符合“白色或淡黄色或无色，无异味”的要求。表明方法是可行的。

2. 分子量：采用流变学方法测定丝素蛋白的平均分子量，SDS-PAGE法测定丝素蛋白的分子量下限。

流变学方法：星月生物提供丝素蛋白膜，流变分析的结果表明，其平均分子量范围为150 kDa~170 kDa；复向丝泰测定了不同脱胶时间制备的丝素蛋白纤维，其平均分子量随着脱胶时间的增加而降低。

SDS-PAGE法：星月生物测定了两种丝素蛋白溶液（分别为氯化钙溶解体系制备和溴化锂溶解体系制备）和丝素蛋白膜的分子量下限，其结果对比蛋白标准品（marker），均大于10 kDa。

流变学方法和SDS-PAGE法的结果均符合丝素蛋白分子量分布应在10 kDa~400 kDa之间的要求，表明所述方法是可行的。需要注意的是，两种方法各有优势与劣势，企业应根据实际情况选择合适的检测方法，或将两者结果结合，作为分子量的检验结果。至少应提供分子量下限信息。

3. 结构表征

3.1 特征氨基酸分析：采用GB/T 32016《蚕丝 氨基酸的测定》中规定的方法进行检验。星月生物、复向丝泰和江西丝科三家生产企业检验结果显示，丝素蛋白总氨基酸含量大于95%（m/m，干重），其中特征氨基酸甘氨酸、丝氨酸、丙氨酸总含量不小于76%（m/m）。以上结果表明检验方法是可行的。

3.2 傅里叶变换红外光谱（FT-IR）：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则0402，红外分光光度法-衰减全反射方法测定。

测试结果：星月生物测定样品为固态丝素蛋白（包括纤维、膜、海绵、粉末），FT-IR实测谱带在 $1700\text{ cm}^{-1}\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ ， $1590\text{ cm}^{-1}\sim 1460\text{ cm}^{-1}$ ，以及 $1280\text{ cm}^{-1}\sim 1190\text{ cm}^{-1}$ 处存在特征峰，同一区间内的不同数值代表着不同的丝素蛋白结构（图1）。

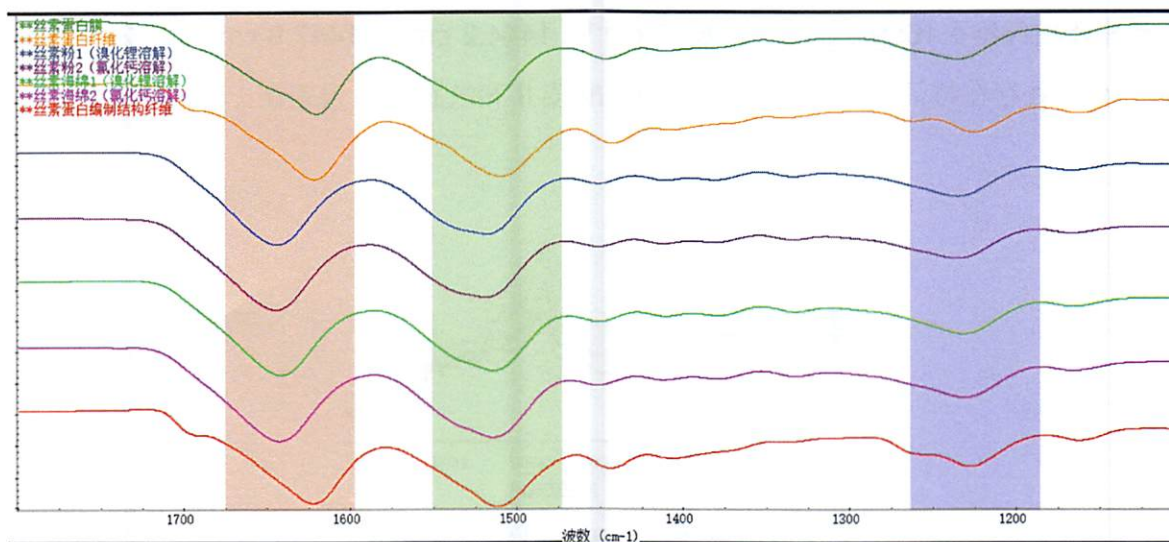


图1. 不同形态丝素蛋白FT-IR测定谱图

复向丝素测定样品为再生丝素蛋白薄膜，FT-IR实测谱带在 $1700\text{ cm}^{-1}\sim 1600\text{ cm}^{-1}$ ， $1590\text{ cm}^{-1}\sim 1460\text{ cm}^{-1}$ ，以及 $1280\text{ cm}^{-1}\sim 1190\text{ cm}^{-1}$ 处存在特征峰。另外，通过甲醇对再生丝素蛋白薄膜处理，并比较处理前后FT-IR谱图，可以看出再生丝素蛋白薄膜的结构变化（图2）。

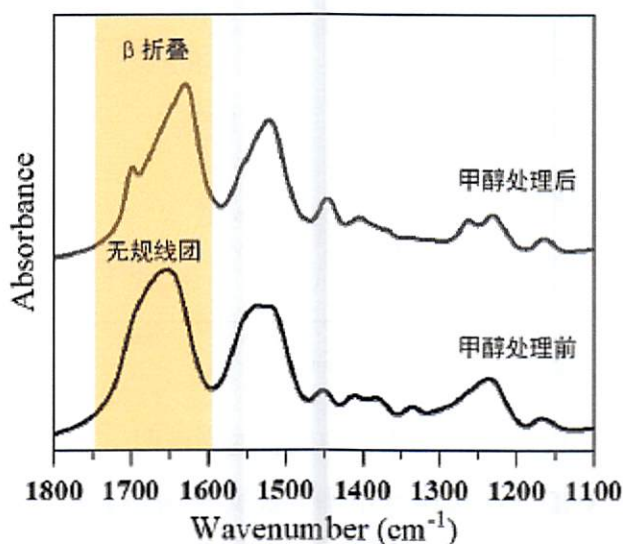


图2. 甲醇处理前后再生丝素蛋白薄膜的FT-IR谱图

两家企业的检测结果表明该方法测定丝素蛋白结构是可行有效的。

3.3 拉曼光谱：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则0421，拉曼光谱法测定，其结果可与红外光谱结果互补。星月生物的检测样品为丝素蛋白纤维和丝素蛋白膜。

丝素蛋白纤维在 1659.9 cm^{-1} ~ 1662.7 cm^{-1} 、 1444.2 cm^{-1} ~ 1447.9 cm^{-1} 、 1229.4 cm^{-1} ~ 1236.3 cm^{-1} 处存在特征峰，分别对应酰胺 I、酰胺 II 和酰胺 III，误差在 $\pm 5\text{ cm}^{-1}$ 范围内（图 3）。

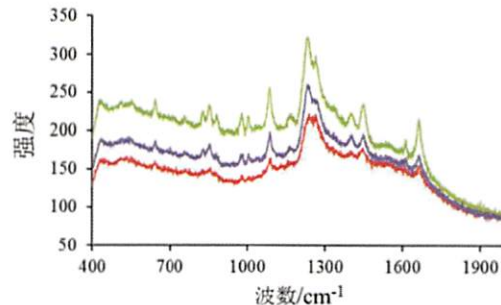


图3. 丝素蛋白纤维拉曼光谱图

丝素蛋白膜在 1240 cm^{-1} 和 1659 cm^{-1} 处存在特征峰，其中， 1659 cm^{-1} 处为 α -螺旋结构特征峰， 1240 cm^{-1} 处为酰胺III β -折叠结构特征峰。图中， 0° 代表将膜放置在拉曼光谱样品台上的初始位置，经旋转 90° 后样品方向垂直于初始方向，偏振拉曼光谱无变化，说明膜的结构为各向同性（图4）。

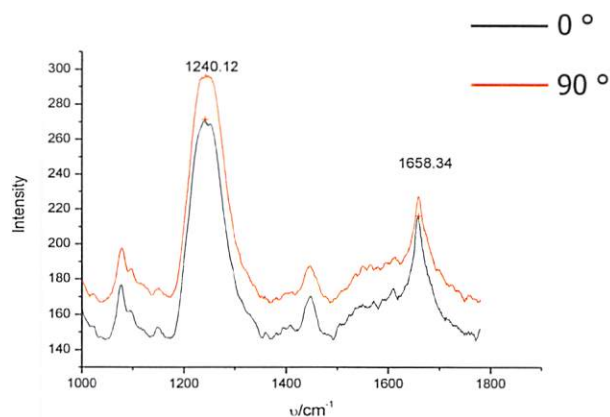


图4. 丝素蛋白膜拉曼光谱图

3.4 X射线衍射法（XRD）：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则 0451，X射线衍射法测定。复向丝泰的检测样品为三种晶型的再生丝素蛋白固体材料。结果显示，无定形的再生丝素蛋白固体材料在XRD图谱中无明显峰；由无规卷曲和螺旋构象组成的silk I晶型在 20° 位置有明显峰；呈反平行 β -片层结构silk II晶型相较silk I晶型，峰位值在图谱中靠右，约 22° ，表明XRD分析作为研究丝素蛋白高级结构的方法可行（图5）。

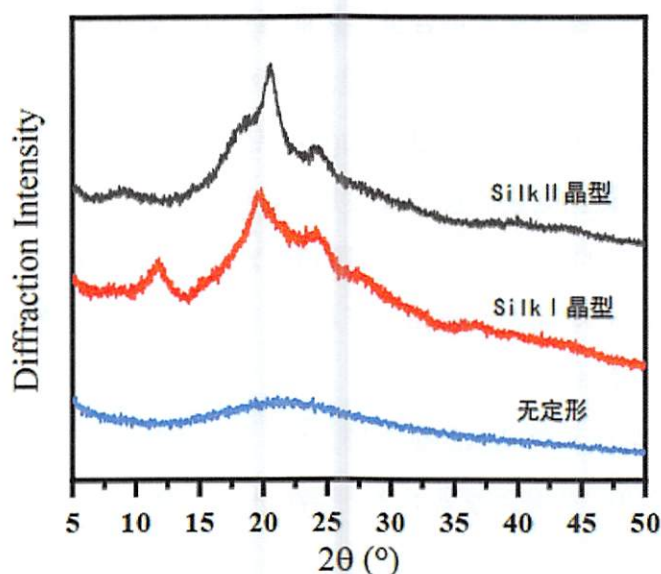


图5. 不同晶型再生丝素蛋白固体材料的XRD图谱

4. 蛋白质含量：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则0731，蛋白质含量测定法中规定的第一法 凯氏定氮方法 测定法（2）检测。转换系数暂定为6.25（参考药典），但建议企业参考自身产品的氨基酸分析结果重新计算转化系数。

星月生物和江西丝科两家生产企业检验结果显示，丝素蛋白的蛋白质含量 $\geq 96\%$ ，表明规定的指标是合理的，检验方法是可行的。

5. 丝胶残留：按照SN/T 2843-2011《生丝含胶率的测定方法》中方法B检测。

星月生物和江西丝科两家生产企业检验结果显示，经脱胶后的丝素蛋白丝胶残留含量 $\leq 2\%$ ，表明规定的指标是合理的，检验方法是可行的。

6. 脂类物质残留量：按照FZ/T 40006-2018《蚕丝含油率试验方法》中的规定检测。

星月生物和江西丝科两家生产企业检验结果显示，丝素蛋白丝脂类物质残留量 $\leq 0.5\%$ 。表明规定的指标是合理的，检验方法是可行的。

7. pH值：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则0631，pH值测定法中的规定检测。固体样品通过浸提或溶解，取液体进行检验。

三家生产企业检验结果显示，丝素蛋白pH值在5.0~8.0，表明检验方法是可行的。

8. 重金属含量：

8.1 重金属总含量：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则0821，重金属检查法第二法检测。星月生物和江西丝科两家生产企业检验结果显示，丝素蛋白重金属总含量 $< 10 \mu\text{g/g}$ ，表明规定的指标是合理的，检验方法是可行的。

8.2 铬、镉、铜、铁、镍、铅、钼含量：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则0406，原子吸收分光光度法检测。星月生物对丝素蛋白纤维进行了检验。结果显示，丝素蛋白纤维铬含量为0.95 $\mu\text{g/g}$ ，镉为0.09 $\mu\text{g/g}$ ，铅0.54 $\mu\text{g/g}$ ，铁3.47 $\mu\text{g/g}$ ，镍0.18 $\mu\text{g/g}$ ，铜和钼含量低于检测限。该结果表明检验方法是可行的。

8.3 砷、汞的含量：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则0405，荧光光度法检测。星月生物对丝素蛋白纤维进行了检验。结果显示，丝素蛋白纤维的砷和汞含量低于检测限。该结果表明检验方法是可行的。

另外，复向丝泰对茧丝和脱胶丝的钠、钾、镁、钙、铜、锌、铁和锰八种金属元素的含量，以原子吸收光谱法和电感耦合等离子体质谱法进行了检测，结果表明脱胶工艺对于金属元素的去除有重大作用。

9. 干燥失重：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则0831，干燥失重测定法测定。三家生产企业检验结果显示，固态丝素蛋白干燥后失重 $\leq 11\%$ ，表明检验方法是可行的。

10. 炽灼残渣：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则0841，炽灼残渣检查法检测。星月生物和江西丝科两家生产企业检验结果显示，丝素蛋白炽灼残渣 $\leq 1.5\%$ ，表明检验方法是可行的。

11. 试剂残留

11.1 溴化锂残留量：使用离子色谱法或电感耦合等离子体原子发射光谱法检测。三家生产企业检验结果显示，再生丝素蛋白溴离子含量 $< 80 \text{ mg/g}$ ，锂离子含量 $< 2 \text{ mg/g}$ 。以上结果表明检验方法是可行的。

11.2 氯化钙残留：钙离子使用电感耦合等离子体发射光谱法检测；氯离子使用离子色谱法检测。星月生物对使用氯化钙溶解体系制得的再生丝素蛋白进行了检测，其中钙离子残留为22.3 $\mu\text{g/g}$ ，氯离子残留为41.5 $\mu\text{g/g}$ 。该结果表明检验方法是可行的。

11.3 尿素残留：氯化钙溶解体系制得的再生丝素蛋白，在溶液透析过程中可能涉及使用尿素。尿素残留量按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则0512，高效液相色谱法检测。星月生物对使用氯化钙溶解体系制得的再生丝素蛋白进行了检测，尿素残留量为24.4 $\mu\text{g/g}$ 。该结果表明检验方法是可行的。

11.4 环氧乙烷残留：使用气相色谱法，对环氧乙烷灭菌的丝素蛋白浸提后顶空进样检测。星月生物对环氧乙烷灭菌并解析的丝素蛋白编织结构纤维进行了检测，环氧乙烷残留量 $\leq 10 \mu\text{g/g}$ 。该结果表明检验方法是可行的。

12. 细菌内毒素含量：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则1143，细菌内毒素检查法试验。星月生物和江西丝科两家生产企业检验结果显示，丝素蛋白细菌内毒素含量 ≤ 0.05 EU/mg。这表明检验方法是可行的。复向丝泰的样品正在验证过程中。

13. 无菌实验：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则1101，无菌检查法对无菌方式提供的丝素蛋白进行试验。星月生物和江西丝科两家生产企业检验结果显示，丝素蛋白在经环氧乙烷或辐照灭菌后均可达到无菌水平。以上结果表明检验方法是可行的。

14. 微生物限度：按照《中华人民共和国药典》（2020年版）四部，通则1105，非无菌产品微生物限度检查：微生物计数法对非无菌方式提供的丝素蛋白进行试验。星月生物对未灭菌的丝素蛋白编织结构纤维进行了检验。结果显示，丝素蛋白编织结构纤维可达到微生物总数 < 12.5 CFU/g的水平，未检出金黄色葡萄球菌、铜绿假单胞菌和大肠埃希菌。该结果表明检验方法是可行的。

15. 生物学评价：按照GB/T 16886.1-2016《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》中相关要求对丝素蛋白进行相应的生物学评价。

星月生物的验证样品为丝素蛋白编织结构纤维和丝素蛋白膜。结果显示，样品细胞毒性不大于1级，无迟发性超敏反应、无皮内反应、无急性全身毒性、无亚慢性全身毒性反应、无遗传毒性；样品在肌肉植入26周，试验样品与对照样品比较组织反应无刺激；免疫毒性评价结果显示，与阴性对照组相比，样品低、中、高剂量处理28天皆未对BALB/C小鼠免疫系统的功能造成不良影响。

复向丝泰对再生丝素蛋白水凝胶的生物相容性进行了测试。结果表明，原代成纤维细胞在再生丝蛋白水凝胶表面培养1天后，呈细长状且平铺在含0.3%及0.5%再生丝蛋白水凝胶表面；培养3天后，细胞铺满材料且成旋涡状，这表明细胞适宜在水凝胶表面生长；Live/Dead的试验中，死细胞仅1~2个；CCK-8结果显示细胞在培养1~3天后，细胞存活率好。这说明再生丝蛋白水凝胶的生物相容性非常好。

上述结果表明天然丝素蛋白和再生丝素蛋白有着良好的生物相容性，对机体刺激、危害小。

四、采用国际标准或国外先进标准程度的说明，以及与国内外同类标准的对比情况

目前国内和国际均无应用于组织工程医疗器械领域的丝素蛋白的相关标准。国内目前仅有贸易行业标准SB/T 10407-2007《丝素与丝胶》对丝素进行了相关质量控制要求的制定。

相较于 SB/T 10407-2007《丝素与丝胶》，本标准重新定义丝素蛋白的范围，在制定理化指标时部分参考了其内容，如重金属含量和特征氨基酸分析指标，并提出了同等或更高的标准要求，使之符合组织工程医疗器械领域的应用。

五、与有关的现行法律、法规和强制性标准的关系。

与现行法律、法规和强制性国家无冲突。

六、重大分歧意见的处理依据和结果的说明

无重大分歧意见。

七、作为强制性行业标准或推荐性行业标准的建议

建议作为推荐性行业标准。

八、贯彻标准的要求和措施建议

为便于相关标准使用方理解和贯彻标准，计划在标准发布出版后适时召开标准宣贯会。宣贯对象为生产企业、监管人员、检验人员及其它相关人员。

建议本标准从发布之日起12个月后开始实施。

九、废止现行有关标准的建议

无。

十、其他应予说明的事项

无。

2022年7月10日