



中华人民共和国医药行业标准

YY 0326.3—2005

一次性使用离心式血浆分离器 第3部分：血浆袋

Plasmapheresis centrifuge apparatus for single use—
Part 3: Containers for plasma

2005-12-07 发布

2006-12-01 实施

国家食品药品监督管理局 发布

前 言

YY 0326 的总标题是一次性使用离心式血浆分离器,包括以下部分:

——第1部分:血浆分离杯;

——第2部分:血浆管路;

——第3部分:血浆袋。

本部分的附录 A、附录 B 和附录 C 均是规范性附录。

本部分由全国医用输液器具标准化技术委员会提出。

本部分由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归口。

本部分起草单位:山东省医疗器械产品质量检验中心、上海输血技术有限公司。

本标准参加起草单位:山东威高集团医用高分子制品股份有限公司、陕西正源科技发展有限公司。

本部分主要起草人:由少华、姜跃琴、陈晓通、刘忠让、吴平。

一次性使用离心式血浆分离器

第3部分：血浆袋

1 范围

YY 0326 的本部分规定了与 YY 0326.1 规定的血浆分离杯、YY 0326.2 规定的血浆管路和 YY 0328 规定的采血器配套使用的血浆袋的要求。本部分所规定的血浆袋贮存采集的血浆用于制备血液制品，不能用于临床输血。

2 规范性引用文件

下列文件中的条款通过 YY 0326 的本部分的引用而成为本部分的条款。凡是注日期的引用文件，其随后所有的修改单（不包括勘误的内容）或修订版均不适用于本部分，然而，鼓励根据本部分达成协议的各方研究是否可使用这些文件的最新版本。凡是不注日期的引用文件，其最新版本适用于本部分。

GB/T 6682 分析实验室用水规格和试验方法 (GB/T 6682—1992, neq ISO 3696:1987)

GB/T 14233.2 医用输液、输血、注射器具检验方法 第二部分：生物学试验方法

GB/T 16886.1 医疗器械生物学评价 第1部分：评价与试验 (GB/T 16886.1—2001, idt ISO 10993-1:1997)

YY 0326.1 一次性使用离心式血浆分离器 第1部分：血浆分离杯

YY 0326.2 一次性使用离心式血浆分离器 第2部分：血浆管路

YY 0328 一次性使用机用采血器

3 术语和定义

下列术语和定义适用于 YY 0326 的本部分。

3.1

血浆袋 container for plasma

专门设计成可与 YY 0326.1 规定离心杯的出口相连接，并收集血浆的袋式容器。

3.2

贮存寿命 shelf-life

灭菌和失效日期之间的期限，超过失效日期后血浆袋不能用于采集血浆。

4 型式、规格和标记

4.1 型式与规格

血浆袋由袋体和输入管路组成。血浆袋的规格按其公称容量一般分为 600 mL、800 mL、900 mL 和 1000 mL 等。

4.2 标记示例

血浆袋用描述字样“血浆袋”加 YY 0326 本部分的编号、最后加血浆袋的公称容量标记。例如，符合 YY 0326 本部分要求公称容量为 800 mL 血浆袋的标记为：

血浆袋 YY 0326.3—800 mL

5 设计

5.1 总则

血浆袋的设计和制造应能为血浆的采集、贮存、处理、转移、分离提供安全和便利。血浆袋应使采集的血浆受微生物污染的危害降至最低,并与 YY 0326.1 规定的分离杯相适应。

5.2 输入管路

5.2.1 血浆袋应有一个输入管路,供采集血浆。输入管路应配置有与符合 YY 0326.1 的分离杯匹配的接口,并有保护套。

5.2.2 输入管路在正常使用时应与外界隔绝无破裂。

5.2.3 血浆袋充水至公称容量并密封后,与血浆袋连接的输入管路应形成密封,并且连接处抗泄漏,能承受施加到管路上的 20 N 的拉力,持续 15 s 无泄漏。施加拉力时应与连接处边缘成直角,且在血浆袋平面纵轴方向上。试验在 $(23 \pm 5)^{\circ}\text{C}$ 条件下进行。

连接处应无泄漏,血浆袋还应满足 6.2.6 中规定的要求。

5.2.4 以目力检测,输入管路应无裂纹、气泡、扭结或其他缺陷。

5.3 悬挂

血浆袋应有悬挂或固定装置,不影响血浆袋在采集血浆、贮存、处理和转移时的使用。在 $(23 \pm 5)^{\circ}\text{C}$ 条件下,悬挂或固定装置应能承受沿输入管路轴向施加的 25 N 拉力 60 min 不断裂。

6 要求

6.1 总则

血浆袋在使用条件下(见 6.2.5)应透明或半透明、无色(见 6.2.4)、柔软、无菌、无热原、无毒性(见 6.4)并不易破碎。在正常贮存条件下应与内装液相容。血浆袋应满足最终灭菌的要求,在灭菌过程中和在温度不超过 40°C 的贮存寿命内不应粘连。

6.2 物理要求

6.2.1 生产条件

血浆袋制造、组装和贮存的全过程,应在符合国家相关法规规定的洁净、卫生条件下进行。在整个制造过程中应采取各种有效的预防措施,以降低微生物或外来物质污染的风险。

6.2.2 灭菌

6.2.2.1 血浆袋应经过确认过的方法灭菌。

6.2.2.2 灭菌方法不应对手浆袋的材料产生不良影响,且不使各连接处松动、塑料材料热合强度下降和血浆袋产生明显变形。

6.2.2.3 制造厂应向国家主管部门提供所用灭菌过程有效性的证据。

6.2.3 透明度

当按第 B.1 章的规定试验时,与一充满水的同种血浆袋相比较,透过血浆袋应能观察到悬浮液呈乳白色。

6.2.4 色泽

灭菌后的血浆袋材料着色的程度应不影响对血浆颜色的评价。

6.2.5 热稳定性

将血浆袋充入符合 GB/T 6682 的水至公称容量的一半,血浆袋应能承受缓慢冷冻至 -80°C 的低湿环境,并贮存 24 h,随后浸入 $(37 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ 的水浴中 60 min,然后再恢复至室温,血浆袋应仍能满足 5.2.3、5.3、6.2.6 和 6.2.7 的要求。

6.2.6 抗泄漏

向血浆袋内充入符合 GB/T 6682 的水至公称容量,并将其密封。随后将血浆袋放在两平板之间进

行挤压,在 $(23\pm 5)^{\circ}\text{C}$ 条件下,使内部压力升高于大气压强 50 kPa,持续 10 min,应不产生泄漏。

对于软聚氯乙烯(PVC)血浆袋,宜在 4°C 下重复进行上述试验。

6.2.7 微粒污染

血浆袋的生产应避免微粒污染。

按第 B.2 章规定试验时,血浆袋液路中宜无可见粒子。

注:建立提供粒子数量和大小极限的工作正在进行中。目前可采用药典中给出的限量和试验方法(如欧洲药典中规定的制剂的极限和方法)。

6.3 化学要求

6.3.1 原始容器或薄片要求

薄片应符合表 1 规定。

表 1 聚烯烃和 PVC 灼烧残渣

| 性能 | 塑料材料 | 最大允许残渣 | 试验方法 |
|------|-----------|----------|---------|
| 灼烧残渣 | 聚烯烃 | 0.5 mg/g | 第 A.2 章 |
| | 含增塑剂的 PVC | 1 mg/g | |

6.3.2 试验液要求

当对按附录 A 制备的浸提液进行试验时,应不超过表 2 规定的限量。

表 2 血浆袋浸提液化学限量

| 性能 | 最大允许限量 | 试验方法 |
|-------------------------------|---|---------|
| 还原物质 | 1.5 mL | A.4.1 |
| 铵离子 | 0.8 mg/L | A.4.2 |
| 氯离子(Cl^-) | 4 mg/L | A.4.3 |
| 金属:Ba,Cr,Cu,Pb Sn,Cd Al | 每种 1 mg/L 每种 0.1 mg/L 0.05 mg/L | A.4.4.1 |
| 重金属 | 2 mg/L | A.4.4.2 |
| 酸碱度 | 0.4 mL 氢氧化钠溶液, $c(\text{NaOH})=0.01 \text{ mol/L}$; 0.8 mL 盐酸溶液, $c(\text{HCl})=0.01 \text{ mol/L}$ | A.4.5 |
| 蒸发残渣 | 5 mg 或 50 mg/L | A.4.6 |
| 浊度 | 微乳浊,但不超过参照悬浮液 | A.4.7 |
| 色泽 | 无色 | A.4.8 |
| 紫外(UV)吸收 | 在 230 nm~360 nm 范围内, 0.2 | A.4.9 |
| 醇溶出物 ^a | 15 mg/100 mL | A.4.10 |

^a 只适用于邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯(DEHP)增塑的软 PVC。

宜慎重选择制造血浆袋所用材料,尽量减少因材料化学成分析出进入内装液而引起的风险。对所用水的毒性和血浆袋与内装液的生物相容性宜特别给予注意。

注:GB 15593 规定了制造血浆袋材料的成分和不同组分的限量及重金属和氯乙烯单体的限量。

6.3.3 环氧乙烷残留量

若血浆袋采用环氧乙烷灭菌,环氧乙烷残留量应不大于 $10 \mu\text{g/g}$ 。

注:GB/T 14233.1 及 GB/T 16886.7 规定了环氧乙烷残留量的试验方法和放行控制。单包装上采用易于环氧乙烷进出的透析材料(如采用一面是透析纸,另一面是塑料膜的复合包装袋,或在已打孔的包装袋上加贴透析纸)可

有效降低环氧乙烷残留。

6.4 生物学要求

6.4.1 总则

血浆袋不应对手浆产生不良作用,不应释放出能产生毒性、细胞毒性、抑菌、杀菌、热原或溶血反应的物质。

注:GB/T 16886 给出了通用的毒性试验方法(见参考文献)。

除了第 C.2 章~第 C.5 章中规定的试验以外,第 C.6 章中给出的试验可用作指南。

6.4.2 微生物不透过性

按第 C.2 章试验时,血浆袋应不透过微生物。

6.4.3 相容性

按第 C.3 章、第 C.4 章和第 C.5 章规定试验时,血浆袋不应向血浆中释放任何能产生热原、毒性或溶血反应的物质。

7 检验规则

7.1 型式检验时生物学评价应按照 GB/T 16886.1 规定的基本原则进行。若无特殊规定,物理性能各随机检验 5 套。

7.2 所有型式检验项目均合格,则通过型式检验。型式检验未通过时,不得进行批量生产。

8 包装

8.1 8.2 至 8.6 规定了密封在外包装内的血浆袋的要求。

8.2 制造厂应根据血浆袋的稳定性数据给出贮存寿命(见 3.2)。

8.3 外包装材料或对其内表面的任何处理既不宜与血浆袋相互反应,又能防止霉菌生长。如采用化学杀真菌剂,应提供对手浆袋无有害渗透或不良影响的证明。

8.4 外包装的密封一旦打开或再闭合应有明显打开过的痕迹。

8.5 外包装在正常处置和使用条件下,应有足够强的耐破损性。

8.6 血浆袋及其组件在外包装中的放置,应尽可能防止输入管路形成扭结和永久变形。

9 标签

9.1 总则

血浆袋的标签应符合相应的国家法律法规要求,此外还应包括 9.2 至 9.5 规定的要求。可使用 YY 0466 中给出的图形符号。

9.2 血浆袋上的标签

如可能,标签应包括下列 a)至 i)中规定的信息,但如果标签的空间太小,d)、e)、f)和 g)允许在使用说明书中给出而不用在标签上给出:

- 预期使用的描述;
- 可采集血浆的体积(毫升)或质量(克);
- 无菌、无热原限定条件的说明;
- 若发现任何肉眼可见变质迹象禁止使用的说明;
- 不需通气的说明;
- 血浆袋仅供一次性使用的说明;
- 血浆袋的使用说明;
- 制造厂和/或供应商名称和地址;
- 批号。

若适宜,标签还可包括超过失效日期后血浆袋不宜用于采集血浆和有关产品编码的信息。

9.3 外包装标签

外包装标签应包括下列内容:

- a) 制造厂和/或供应商名称和地址;
- b) 失效日期;
- c) 批号。

如果使用透明外包装,9.2和9.3要求的信息宜标在血浆袋的标签上。

9.4 运输箱上的标签

该标签宜是明显可见的,应包括下列信息:

- a) 制造厂或供应商名称和地址;
- b) 内装物说明;
- c) 贮存条件;
- d) 批号;
- e) 失效日期。

9.5 标签要求

血浆袋的标签应:

- a) 为血浆袋制造厂和用户信息保留足够使用的面积;
- b) 在血浆袋上留出一个无任何标记的区域,以便于目力检验血浆;
- c) 标签上的印字不会渗入血浆袋的塑料材料内;
- d) 使用时标签上的印字仍保持清晰可认。

附录 A

(规范性附录)

化 学 试 验

A.1 总则

试验材料宜取自完成的、灭过菌的血浆袋上与血浆接触的材料,包括血浆袋上的塑料薄片、输入管路及其他与血浆接触的部分。

A.2 灼烧残渣的测定

称量 1.00 g~2.00 g 材料(切成小片)置于已灼烧并恒量的坩埚内,精确称量,加热至 100℃~105℃ 1 h。然后在(550±25)℃下灼烧。放入干燥器内冷却并称量,重复灼烧直至恒量。计算每克材料残渣的质量。

可以采用药典中描述的评价方法。

A.3 试验液制备

先后两次向血浆袋内充入公称容量的注射用水,振摇约 1 min 后排空血浆袋。洗液排空后,向血浆袋内充入公称容量的注射用水。然后挤压血浆袋,排出血浆袋中残存空气并密封血浆袋。在(70±2)℃下浸提(24±2)h。取 250 mL 的注射用水用作对照液(空白液)。

A.4 试验

A.4.1 还原物质的测定

加 20.0 mL 高锰酸钾[$c(\text{KMnO}_4)=0.002 \text{ mol/L}$]和 1.0 mL 硫酸溶液[$c(\text{H}_2\text{SO}_4)=1 \text{ mol/L}$]至 20.0 mL 的试验液中,煮沸 3 min。加入 1.0 g 碘化钾,用硫代硫酸钠溶液[$c(\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3)=0.01 \text{ mol/L}$]滴定直至溶液呈淡棕。加入 5 滴淀粉溶液,滴定至无色。

计算试验液和水(作为对照液)消耗高锰酸钾[$c(1/5\text{KMnO}_4)=0.01 \text{ mol/L}$]溶液的量,两者之差不应大于 1.5 mL。

A.4.2 铵离子测定

向 10 mL 试验液中加入 2 mL 氢氧化钠[$c(\text{NaOH})=1 \text{ mol/L}$],使溶液呈碱性。随后用蒸馏水稀释至 15 mL,加入 0.3 mL 纳氏试剂¹⁾。

同时制备对照液。向 8 mL 质量浓度为[$\rho(\text{NH}_4^+)=1 \text{ mg/L}$]铵标准溶液中加入 2 mL 氢氧化钠[$c(\text{NaOH})=1 \text{ mol/L}$],使溶液呈碱性。随后用蒸馏水稀释至 15 mL,加入 0.3 mL 纳氏试剂¹⁾。

30 s 后进行检查,试验溶液所呈现出的黄颜色不应高于对照溶液。

A.4.3 氯离子测定

加 0.3 mL 硝酸银溶液[$c(\text{AgNO}_3)=0.1 \text{ mol/L}$]至 0.15 mL 的稀硝酸中,再将该混合液加至 15 mL 的浸提液中。

同法用 12 mL 氯标准液(5 mgCl⁻/L)和 3 mL 水制备对照液。

振摇混合液,2 min 后,用浸提液制备的溶液不应比对照液混浊。应避免阳光直射溶液。

A.4.4 金属的测定

1) 见 GB/T 14233.1—1998 中 5.8.2b)。

A.4.4.1 重金属

用原子吸收光谱分析法测定金属 Ba、Cd、Cr、Cu、Pb、Sn 和 Al。将按第 A.3 章制备的试验液蒸发使其浓缩可以提高检测限。在这种情况下,向 250 mL 试验液中加入 2.5 mL 盐酸溶液 [$\rho(\text{HCl}) = 10 \text{ g/L}$]。

A.4.4.2 重金属试验的另选方法

重金属总量化学检测法可用于代替原子吸收光谱法检测按第 A.3 章制备的试验液中的重金属。

向 12 mL 试验液中加入 1.2 mL 硫代乙酰胺试剂和 2 mL 乙酸铵缓冲溶液 ($\text{pH}=3.5$),立即混合。

同法向 10 mL 铅溶液 [$\rho(\text{Pb}^{2+}) = 2 \text{ mg/L}$] 中加入 2 mL 试验液,制备对照液。2 min 后被检溶液所呈现出的棕色不能深于对照液。

A.4.5 酸碱度测定

向 10 mL 浸提液中加入 2 滴酚酞试液,溶液不应呈红色。加入少于 0.4 mL 的氢氧化钠溶液 [$c(\text{NaOH}) = 0.01 \text{ mol/L}$],应呈红色。加入 0.8 mL 盐酸 [$c(\text{HCl}) = 0.01 \text{ mol/L}$],红色应消失。加入 5 滴甲基红溶液,溶液应呈红色。

A.4.6 蒸发残渣测定

在水浴上将 100 mL 的试验液蒸干,并在 105°C 下干燥至恒量。

A.4.7 浊度和乳色程度测定

A.4.7.1 总则

使用同一无色、透明、内径为 15 mm 至 25 mm 的中性玻璃平底试管,比较被测液和按下所述新制备的对照悬浮液,试管内液体层深 40 mm。制备好悬浮液后,在漫射日光下,垂直于黑色背景观察溶液 5 min。光线的漫射应使对照悬浮液 1 能易于区分于水,对照悬浮液 2 能易于区分对照悬浮液 1。

A.4.7.2 试剂

A.4.7.2.1 硫酸肼溶液

用水溶解 1 g 硫酸肼,稀释至 100 mL,放置 4 h 至 6 h。

A.4.7.2.2 六亚甲基四胺溶液

在 100 mL 具塞玻璃瓶中,用 25 mL 的水溶解 2.5 g 六亚甲基四胺。

A.4.7.2.3 初级乳色悬浮液

向六亚甲基四胺溶液 (A.4.7.2.2) 中加入 25 mL 硫酸肼溶液 (A.4.7.2.1),混合后放置 24 h。

该悬浮液贮存在无表面缺陷的玻璃容器中可保持稳定两个月。悬浮液不应粘附到玻璃容器上,使用前应充分混合。

A.4.7.2.4 乳色标准液

加水稀释 15 mL 初级悬浮液 (A.4.7.2.3) 至 1 000 mL。

该悬浮液应是新制备的,存放至多 24 h。

A.4.7.2.5 对照悬浮液

按表 A.1 制备对照悬浮液,使用前振荡混匀。

表 A.1 对照悬浮液

单位为毫升

| 对照悬浮液 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|----------|----|----|----|----|
| 乳色标准液, V | 5 | 10 | 30 | 50 |
| 水, V | 95 | 90 | 70 | 50 |

A.4.7.3 结果表示

A.4.7.3.1 当在上述条件下检查时,如果液体透明度和水或所用的溶剂的透明度一样,或其乳色与对照悬浮液 1 无明显差别,则认为该液体“清澈”。

A.4.7.3.2 如液体的乳色度比 A.4.7.3.1 明显,但与对照悬浮液 2 无明显差别,则认为液体“微乳

浊”。

A.4.7.3.3 如液体的乳色度比 A.4.7.3.2 明显,但与对照悬浮液 3 无明显差别,则认为液体“乳浊”。

A.4.7.3.4 如液体的乳色度比 A.4.7.3.3 明显,但与对照悬浮液 4 无明显差别,则认为液体“高度乳浊”。

A.4.8 色泽程度测定

A.4.8.1 总则

在棕-黄-红范围内的液体色度的测定应按 A.4.8.2 和 A.4.8.3 规定的两种方法之一进行。

A.4.8.2 方法 1

在漫射日光下,以白色为背景,用 2 支无色、透明、内径为 12 mm 的中性玻璃试管,水平观察比较 2 mL 试验液和 2 mL 水的颜色。

A.4.8.3 方法 2

在漫射日光下,以白色为背景,用 2 支无色、透明、内径为 16 mm 的中性玻璃试管,沿试管轴垂直观察比较 10 mL 试验液和 10 mL 水液柱的颜色。

A.4.8.4 结果表示

在方法 1 或方法 2 规定的条件下测定时,如试验液具有水的外观,即认为“无色”。

A.4.9 紫外(UV)吸收测定

在 1 cm 池内,测定浸提液相对于空白液在 230 nm 至 360 nm 波长范围内的紫外吸收度。

A.4.10 醇溶出物(DEHP)测定

注:该测定方法仅适用于含有 DEHP 的软 PVC。

A.4.10.1 试剂

A.4.10.1.1 乙醇:体积分数为 95.1% 至 96.6%,密度 ρ 从 0.805 0 g/mL 至 0.812 3 g/mL。

A.4.10.1.2 浸提溶剂:用液体比重天平测定密度 ρ 为 0.937 3 g/mL 至 0.937 8 g/mL 的乙醇水混合液。

A.4.10.1.3 邻苯二甲酸二(2-乙基)己酯($C_{24}H_{38}O_4$):一种无色油状液体,不溶于水,溶于有机溶剂; ρ 为 0.982 g/mL 至 0.986 g/mL,20℃ 时折光指数 n_D^{20} 1.486 至 1.487。

A.4.10.2 标准溶液制备

A.4.10.2.1 溶液 1

在乙醇(A.4.10.1.1)中溶解 1 g DEHP(A.4.10.1.3),用乙醇稀释至 100 mL。

A.4.10.2.2 溶液 2

用乙醇稀释 10 mL 的溶液 1(A.4.10.2.1)至 100 mL。

A.4.10.2.3 标准溶液 A 至 E

按下列步骤配制标准溶液 A 至标准溶液 E:

- 溶液 A:用浸提溶剂(A.4.10.1.2)稀释 20 mL 溶液 2(A.4.10.2.2)至 100 mL(DEHP 含量:20 mg/100 mL)。
- 溶液 B:用浸提溶剂稀释 10 mL 溶液 2 至 100 mL(DEHP 含量:10 mg/100 mL)。
- 溶液 C:用浸提溶剂稀释 5 mL 溶液 2 至 100 mL(DEHP 含量:5 mg/100 mL)。
- 溶液 D:用浸提溶剂稀释 2 mL 溶液 2 至 100 mL(DEHP 含量:2 mg/100 mL)。
- 溶液 E:用浸提溶剂稀释 1 mL 溶液 2 至 100 mL(DEHP 含量:1 mg/100 mL)。

A.4.10.3 标准曲线法

在 272 nm 下,用浸提溶剂作参照液,测量标准溶液(A.4.10.2.3)的最大吸光度,绘出吸光度对 DEHP 浓度的曲线。

A.4.10.4 浸提步骤

将浸提溶剂加热到 37℃,通过血浆袋的采血管注入血浆袋内至公称容积的一半,将血浆袋中的空

气全部排出，封住采血管，将其水平浸入 $(37\pm1)^{\circ}\text{C}$ 的水浴中 (60 ± 1) min，不加振动。从水浴中取出血浆袋轻轻倒转 10 次，将内装液移至一只玻璃烧瓶中。

用浸提溶剂作参照液，测量在 272 nm 处最大吸收度。

A. 4. 10. 5 结果表示

将血浆袋中获得的结果(见 A. 4. 10. 4)和标准溶液吸光度校准曲线(见 A. 4. 10. 3)比较，测定可浸提的 DEHP 的量。

附 录 B
(规范性附录)
物 理 试 验

B.1 透明性试验

将初级乳色悬浮液(A.4.7.2.3)在1 cm 池中640 nm 条件下,测量时稀释至吸光度为0.37至0.43(稀释比约1:16),然后充入血浆袋至公称容量。

B.2 微粒污染试验

B.2.1 在洁净室条件下向血浆袋内充入用孔径为0.2 μm 的滤膜过滤过的纯化水²⁾至公称容量。

B.2.2 用能快速直接检验可见粒子的适宜方法检验血浆袋中的液体。

2) 中国药典或欧洲药典。

附 录 C

(规范性附录)

生物学试验

C.1 试验液制备

C.1.1 试验液 I (水浸提液)

两次向血浆袋内充入公称容量的注射用水,振摇约 1 min 后倒空洗涤液。向血浆袋内加入无菌、无内毒素的氯化钠溶液[$\rho(\text{NaCl})=9\text{g/L}$],所加溶液应满足血浆袋的内表面积(平方厘米)与氯化钠溶液的体积(毫升)之比至少为 6:1。随后挤压血浆袋,排出残存气体并密封。血浆袋可装入一个外袋内,在 $(70\pm 2)^\circ\text{C}$ 下浸提 $(24\pm 2)\text{h}$ 。冷却后混合各血浆袋中的浸提液。以同样的方法在一烧瓶内制备 250 mL 无菌、无内毒素的等渗氯化钠溶液,用作对照液(空白样品)³⁾。

C.1.2 试验液 II (油浸提液)

按 C.1.1 制备试验液 I 的方法制备试验液 II,但

——用注射用水清洗过的血浆袋在 50°C 下干燥 1 h,或干燥至以目力检测无水分为止;

——采用胃肠外用芝麻油⁴⁾或棉籽油⁴⁾作为浸提介质;

——所用的浸提介质作为对照液。

C.2 微生物不透过性试验

取数只血浆袋在无菌条件下加入培养基(如酪蛋白胨大豆粉肉汤培养基)至公称容量,密封。将血浆袋或血浆袋的适宜部分浸入试验菌悬液(如枯草杆菌变种 NCTC 10073,菌含量约 10^6CFU/mL)中至少 30 min。取出后用无菌水清洗,将血浆袋置于适合试验菌生长的温度(如枯草杆菌需 37°C)下培养至少 7 d。

以相同方式制备 1 个血浆袋,向其内装液接种 1 mL 试验菌悬液用作阳性对照。也可以将培养基注入血浆袋后穿刺血浆袋的特定区域,再将血浆袋浸入试验菌液内用作阳性对照。

检查内装液是否有微生物生长。阳性对照应呈现混浊,试验样品应不混浊。

C.3 细菌内毒素试验

按 GB/T 14233.2 试验时,每只血浆袋注入浸提介质不超过 40 mL,细菌内毒素限量应小于 0.5EU/mL 。

C.4 细胞毒性试验

C.4.1 细胞培养方法

将 L-929 哺乳动物成纤维培养细胞(如 ATCC 细胞系 CCL 1, NCTC Clone 929)用含血清 MEM (最低必需培养基)制备成细胞密度约 10^5 个/mL 的细胞悬液。将制备好的细胞悬液 2 mL 加入至直径

3) 适宜的阴性和阳性对照样品如 HD-PE 高密度聚乙烯(USP 阴性生物反应参照样品)和含有有机锡添加剂的 PVC(USP 阳性反应参照样品)。US Pharmacopoeia, Rockville, MD, 20852, USA 有售。这一信息仅是为本标准的使用者提供方便,并不表示 ISO 对这些产品的认可。如表明能导致相同的结果,也可使用其他等效的产品。

4) 见美国药典。

为 35 mm 的培养皿内,在 $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 下、体积分数(百分数)为 $\phi(\text{CO}_2)=(5\pm 1)\%$ 的二氧化碳气体中培养至少 24 h,直至不小于 80%的汇合单层细胞形成。用显微镜观察培养细胞,证实已形成均匀、近汇合单层细胞。

C.4.2 步骤

培养完成后,将培养皿中培养液弃去,替换成 2 mL 用含血清细胞培养液稀释的试验液 I (试验液的体积分数为 25%)。

以同样的步骤处理试验液 II、试验液 I 和 II 的对照液(空白样品)、阴性对照样品和阳性对照样品的浸提液(见 C.1.1 和 C.1.2)。所有试验液、空白样品和对照液均平行制备两个培养皿。

全部培养皿置 $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 的有氧环境中培养 48h,最好置于体积分数为 $\phi(\text{CO}_2)=(5\pm 1)\%$ 的二氧化碳气体培养箱内。

培养完成后在显微镜下检查培养细胞。可采用适宜的染色剂进行细胞染色。

C.4.3 评价

描述每个培养皿中的生物学反应(细胞退化和畸形),按表 C.1 分成 0 至 4 级。

检查空白样品、阴性和阳性对照样品,以评定试验步骤的适宜性。如果出现异常现象需重复试验。

试验液培养细胞应显示至多是轻微反应(2 级)。如试验液培养细胞的生物学反应明显大于阴性对照液培养细胞,用不同稀释度的试验液重复试验。

表 C.1 反应程度

| 级别 | 反应程度 | 培养细胞的状态 |
|----|------|--------------------------------------|
| 0 | 无 | 胞浆内有离散的颗粒;无溶解的细胞。 |
| 1 | 极轻微 | 至多 20% 的细胞呈圆形,疏松贴壁,无胞浆内颗粒;偶有溶解的细胞。 |
| 2 | 轻微 | 至多 50% 的细胞呈圆形,无胞浆内颗粒;明显可见溶解细胞和细胞间空区。 |
| 3 | 中度 | 至多 70% 的细胞呈圆形和/或溶解。 |
| 4 | 重度 | 细胞层几乎完全破坏。 |

C.5 溶血试验

C.5.1 红细胞悬浮液制备

取抗凝新鲜人血(用符合中国药典的抗凝剂制配)用无菌氯化钠溶液 $[\rho(\text{NaCl})=9\text{ g/L}]$ 稀释,溶液与血液的体积之比为 5:1。在离心机上以 $1\,500\text{ g}\sim 2\,000\text{ g}$ 离心 5 min。吸出上清液,再加入同样体积的氯化钠溶液在同等条件下重复对红细胞进行处理。

注:新鲜人血指采集后不超过 72h 的人体血液。

将以这种方法获得的红细胞用无菌氯化钠溶液 $[\rho(\text{NaCl})=9\text{ g/L}]$ 以 1:9 的比例稀释,在室温条件下贮存该悬浮液,应在 6 h 内使用。

C.5.2 步骤

取 125 mL 按第 A.3 章制备的试验液,在 100°C 下蒸发,用 5 mL 无菌氯化钠溶液 $[\rho(\text{NaCl})=9\text{ g/L}]$ 溶解蒸发残渣,再加入 1 mL 红细胞悬浮液,在 $(37\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 下放置 20 min。然后以 $1\,500\text{ g}\sim 2\,000\text{ g}$ 离心混合液 5 min。

在相同的条件下但不加入试验液蒸发残渣,同法制备对照液。

用 1 cm 比色池在 540 nm 下测量试验液和对照液上清液的吸光度,试验液的吸光度与对照液吸光度之差应不超过 10%。

注:所述试验不能用于检测试验液中的易挥发性成分,但试验液的浓缩可使试验具有较高的灵敏度。

C.6 可选择的生物学试验方法

表 C.2 中列出的试验方法仅是提供信息。

表 C.2 可供选择的生物学试验方法

| 条号 | 生物学试验 | 推荐使用的试验方法 |
|---------|---------|---------------------------------|
| C. 6. 1 | 与血液相互作用 | GB/T 16886. 4 GB/T 14233. 2 |
| C. 6. 2 | 细胞毒性 | GB/T 16886. 5 GB/T 14233. 2 |
| C. 6. 3 | 溶血 | GB/T 16886. 4 GB/T 14233. 2 |
| C. 6. 4 | 急性全身毒性 | GB/T 16886. 11 GB/T 14233. 2 |
| C. 6. 5 | 致敏 | GB/T 16886. 10 GB/T 14233. 2 |
| C. 6. 6 | 皮内反应 | GB/T 16886. 10 GB/T 14233. 2 |
| C. 6. 7 | 热原试验 | GB/T 14233. 2 |

参 考 文 献

- [1] GB 14232.1—2004 人体血液及血液成分袋式塑料容器 第1部分:传统型血袋
 - [2] GB/T 14233.1—1998 医用输液、输血、注射器具检验方法 第1部分:化学分析方法
 - [3] GB 15593 输血(液)器具用软聚氯乙烯塑料
 - [4] GB/T 16886.4—2003 医疗器械生物学评价 第4部分:与血液相互作用试验选择
 - [5] 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
 - [6] GB/T 16886.7—2001 医疗器械生物学评价 第7部分:环氧乙烷灭菌残留量
 - [7] 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
 - [8] GB/T 16886.11 医疗器械生物学评价 第11部分:全身毒性试验
-