

ICS 11.220
CCS B 42

T/CVDA

团体标准

T/CVDA 67-2025

兽用可吸收干细胞支架制备和使用技术标准

Preparation and Use Technology Standard of Absorbable Stem Cell Scaffold
for Veterinary Use

2025-12-17 发布

2025-12-17 实施

中国兽药协会 发布

目录

| | |
|------------------------------------|---|
| 1. 范围..... | 3 |
| 2. 规范性引用文件..... | 3 |
| 3. 术语和定义..... | 3 |
| 3.1 干细胞支架 Stem cell scaffold..... | 3 |
| 3.2 组织工程 Tissue engineering | 4 |
| 3.3 冻干 Freeze-drying process | 4 |
| 4. 缩略语 | 4 |
| 5. 制备工艺..... | 4 |
| 5.1 原材料溶解..... | 4 |
| 5.2 搅拌与均质化..... | 4 |
| 5.3 分装到模具..... | 5 |
| 5.4 冻干（冷冻干燥） | 5 |
| 5.5 裁切与包装..... | 5 |
| 5.6 灭菌..... | 5 |
| 6. 质量控制..... | 6 |
| 6.1 材料..... | 6 |
| 6.2 外观..... | 6 |
| 6.3 尺寸..... | 6 |
| 6.4 孔隙率 | 6 |
| 6.5 空隙大小 | 7 |
| 6.6 吸水率 | 7 |
| 6.7 溶剂残留量..... | 7 |
| 6.8 重金属 | 7 |
| 6.9 细胞活性 | 7 |
| 6.10 细胞增殖..... | 7 |
| 6.11 降解..... | 7 |
| 6.12 无菌 | 7 |
| 6.13 内毒素 | 7 |
| 6.14 细胞毒性..... | 7 |
| 6.15 皮内反应..... | 8 |
| 6.16 急性全身毒性 | 8 |
| 6.17 亚慢性毒性..... | 8 |
| 6.18 植入试验..... | 8 |
| 7. 检验规则 | 8 |
| 7.1 抽样方法和数量..... | 8 |
| 7.2 复核检查 | 8 |
| 7.3 判定规则 | 8 |
| 8. 储存和运输..... | 8 |
| 8.1 储存..... | 8 |
| 8.2 运输..... | 8 |
| 9. 兽用可吸收干细胞支架用途及推荐用量..... | 9 |

前　　言

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。

本标准由中国兽药协会提出并归口。

本标准起草单位：苏州修宝生物科技有限公司、陕西佰奥德生物科技有限公司。

本标准主要起草人：补亚忠、杜宝吉、李海龙、杨震、赵锋。

本标准名称：兽用可吸收干细胞支架制备和使用技术标准

兽用可吸收干细胞支架制备和使用技术标准

1. 范围

本文件规定了兽用可吸收干细胞支架的制备、质量控制、储存、运输及应用等技术要求。

本文件适用于兽用可吸收干细胞支架制备、质量控制和治疗等技术和要求的规范。

2. 规范性引用文件

下列文件中的内容通过本文件的规范性引用而成为本文件必不可少的条款。

凡是注日期的引用文件，仅注日期的版本适用于本文件。凡是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。

GB 191 包装储运图示标志

GB/T 6682-2008 分析实验室用水规格和试验方法

YY / T 1616-2018 组织工程医疗器械产品生物材料支架的性能和测试指南

GB 18280. 1 医疗保健产品灭菌 辐射 第 1 部分：医疗器械灭菌过程的开发、确认和常规控制

《中华人民共和国兽药典》（2020 年版）

《中华人民共和国药典》（2020 年版）

T/CSBME 032-2021 医用四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺戊二酸酯

GB/T 14233. 1-2022 医用输液、输血、注射器具检验方法 第 1 部分：化学分析方法

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

GB/T 16886. 10-2017 医疗器械生物学评价 第 10 部分：刺激与皮肤致敏试验

GB/T 16886. 11-2021 医疗器械生物学评价 第 11 部分：全身毒性试验

GB/T 16886. 6-2022 医疗器械生物学评价 第 6 部分：植入后局部反应试验

GB/T 16886. 5-2017 医疗器械生物学评价 第 5 部分：体外细胞毒性试验

YY/T 0729. 1-2009 《组织粘合剂粘接性能试验方法第 1 部分：搭接-剪切拉伸承载强度》

3. 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3. 1 干细胞支架 Stem cell scaffold

干细胞支架材料能够为细胞提供适宜的附着点，增强细胞间的相互作用，从而促进细胞的增殖和分化。通过设计具有特定功能的细胞外基质 (ECM) 结构，干细胞支架材料可以控制细胞向特定方向或功能类型的分化。干细胞支架材料能够模拟天然生物组织的微环境，为细胞提供

一个稳定的三维结构，有助于形成功能性的组织和器官。

3.2 组织工程 Tissue engineering

组织工程旨在通过细胞、生物材料和生长因子等手段，构建具有特定功能和结构的人工组织。

3.3 冻干 Freeze-drying process

冻干工艺即真空冷冻干燥工艺，是把含有大量水分的物质，预先进行降温冻结成固体，然后将其置于一个低水气压（通常靠真空状况达到）的环境下，使包含的冰在不发生熔化的情况下直接升华成汽态，从而除去水分的过程。

4. 缩略语

无

5. 制备工艺

5.1 原材料溶解

5.1.1 溶解环境

无菌操作台内进行，溶剂选用无菌去离子水将原材料（如透明质酸钠、聚乙二醇、明胶、壳聚糖）等材料搅拌溶解。

温度控制：天然材料溶解温度通常为 4–37°C（胶原蛋白在 4°C 下缓慢溶解，明胶在 40–60°C 热水中溶解）；合成高分子可加热至 50–80°C 加速溶解。

5.1.2 溶解参数

浓度：根据支架力学性能需求调整，胶原蛋白浓度通常为 2%–10% (w/v)，透明质酸为 1%–5% (w/v)，PEG 浓度通常为 1%–10% (w/v)。

搅拌辅助：采用磁力搅拌（转速 50–200 rpm），避免剧烈搅拌产生气泡，溶解时间 2–24 小时（天然材料需更长时间）。

5.2 搅拌与均质化

5.2.1 搅拌目的

使多组分材料（如胶原蛋白+透明质酸）均匀混合，确保支架成分均一性。

5.2.2 设备与参数

采用搅拌器（转速 50–150 rpm），搅拌时间 10–30 min。

真空脱泡：搅拌后将混合液置于真空干燥箱（-0.1 MPa），25°C 下脱泡 10–30 min，去除搅拌产生的气泡（气泡会导致支架孔隙不均匀）。

5.3 分装到模具

5.3.1 模具选择

材质：医用级硅胶模具（耐高温、易脱模）或聚四氟乙烯（PTFE）模具，形状根据需求设计（如片状、管状、块状）。

预处理：模具需经 75% 酒精擦拭消毒，紫外线照射 30 分钟灭菌。

5.3.2 分装操作

采用无菌注射器或蠕动泵将混合液注入模具，液面高度控制在 5-20mm（根据支架厚度需求）。

避免溢出，分装后轻轻敲击模具侧壁，排出残留气泡，静置 10-20 分钟使液面平稳。

5.4 冻干（冷冻干燥）

冻干是形成支架多孔结构的关键步骤，通过低温冻结后升华去除水分，保留三维网络结构。

5.4.1 预冻干

将模具放入冻干机托盘，在-40°C 至 -80°C 下冻结 2-4 小时，确保混合液完全固化（避免冰晶过大破坏孔隙结构）。

5.4.2 升华干燥

初级干燥：真空度维持在 10-50Pa，温度从-40°C 缓慢升至-10°C，持续 12-24 小时，去除游离水分。

次级干燥：温度升至 20-40°C，真空度 <10Pa，持续 6-12 小时，去除结合水，避免支架回潮。

5.4.3 冻干后特性

孔隙率：50%-80%，孔径 50-200 μm（适合干细胞附着与增殖）。

力学性能：压缩模量 0.1-10MPa（根据动物体型调整，如大型犬关节支架需更高强度）。

5.5 裁切与包装

5.5.1 裁切

在无菌操作台内，用无菌手术刀或专用切割刀将冻干后的支架裁切为所需尺寸（如 1cm × 1cm × 0.5cm 的片状），避免边缘破损。剔除形状不规则、孔隙异常的支架。

5.5.2 包装

采用无菌铝塑复合袋，每袋 1 个或多个支架，装入支架后用封口机封口。

5.6 灭菌

需确保支架无菌且不破坏其生物活性，常用灭菌方式：

5.6.1 辐照灭菌

钴-60 γ 射线辐照，剂量 15–25kGy，适用于胶原蛋白、明胶等天然材料支架（注意：过高剂量可能导致材料降解，需提前验证）。

5.6.2 环氧乙烷 (EO) 灭菌

温度 30–50°C，湿度 40%–80%，EO 浓度 400–800mg/L，灭菌时间 4–6 小时，后续解析 12–24 小时去除残留 EO（残留量<10 μ g/g）。

5.6.3 蒸汽灭菌

仅适用于合成高分子支架（如 PLA/PLGA），121°C、0.1MPa 下灭菌 20 分钟（天然材料高温下易变性，不适用）。

6. 质量控制

6.1 材料

6.1.1 PEG 符合 T/CSBME 032–2021 医用四臂聚乙二醇琥珀酰亚胺戊二酸酯原材料部分技术要求和《中华人民共和国兽药典》（2020 年版）一部 PEG 的要求。

6.1.2 明胶符合 QB 2354–2005 药用明胶。

6.1.3 PBS 中磷酸盐符合《中华人民共和国兽药典》（2020 年版）一部的要求。

6.2 外观

矫正视力目测观察，干细胞支架应有类似海绵结构，孔均匀无肉眼可见杂质，颜色为白色或淡黄色。

6.3 尺寸

取样品若干，用相应精度的通用测量工具测量，记录每个样品的尺寸数据，结果应符合表 1。

表 1

| 长 (mm) | 允差 | 宽 (mm) | 允差 | 厚度 (mm) | 允差 |
|-----------|---------|-----------|---------|----------|-----------|
| ≤ 20 | ± 2 | ≤ 15 | ± 2 | ≤ 2 | ± 0.2 |
| 20~50 | ± 3 | 15~40 | ± 3 | 2~5 | ± 0.3 |
| ≥ 50 | ± 5 | ≥ 40 | ± 4 | ≥ 5 | ± 0.5 |

6.4 孔隙率

取样品，按 YY/T 1616-2018《组织工程医疗器械产品生物材料支架的性能和测试指南》附录 A 的方法分进行检测，干细胞支架的孔隙率 50%–80%。

6.5 空隙大小

按 YY/T 1616-2018《组织工程医疗器械产品生物材料支架的性能和测试指南》5.3.3 的方法测量，干细胞支架的孔隙大小应该在 50~200 μm 。

6.6 吸水率

按 YY/T 1616-2018《组织工程医疗器械产品生物材料支架的性能和测试指南》5.5.1 方法检测，干细胞支架的吸水率不小于自身质量的 15 倍。

6.7 溶剂残留量

按 GB/T 14233.1-2022 医用输液、输血、注射器具检验方法 第 1 部分：化学分析方法检测，应 $\leq 0.01\%$ 。

6.8 重金属

按照《中华人民共和国兽药典》(2020 年版)一部 附录 0821 重金属检查法第三法测定，取干细胞支架 1.0g 于样品管中,标准铅溶液 1.0mL 于标准对照管中,应 $\leq 10\mu\text{g/g}$ 。

6.9 细胞活性

按 YY/T 1562-2017 组织工程医疗器械产品 生物材料支架细胞活性试验指南 6.1 的检验方法检验，干细胞在支架中的存活率应 $\geq 85\%$ 。

6.10 细胞增殖

按 YY/T 1562-2017 组织工程医疗器械产品 生物材料支架细胞活性试验指南 6.2 的检验方法检验，干细胞在支架中可以保持活性，正常增殖。

6.11 降解

按 YY/T 1806.1-2021《生物医用材料体外降解性能评价方法第 1 部分:可降解聚酯类》的方法检测，生物材料体外 37℃ 条件下降解时间范围为 3-7 天。

6.12 无菌

按《中华人民共和国兽药典》(2020 年版)三部 附录 3306 无菌检验或纯粹检验法的方法检测，干细胞支架应无菌。

6.13 内毒素

按《中华人民共和国兽药典》(2020 年版)一部 附录 1143 细菌内毒素检查法的方法检测，干细胞支架内毒素应符合兽药典体内产品标准。

6.14 细胞毒性

按 GB/T 16886.5-2017 医疗器械生物学评价 第 5 部分：体外细胞毒性试验中的方法进行，应不大于 I 级。

6.15 皮内反应

按 GB/T 16886.10-2017 医疗器械生物学评价 第 10 部分：刺激与皮肤致敏试验中的方法进行，应无皮肤致敏反应。

6.16 急性全身毒性

按 GB/T 16886.11-2021 医疗器械生物学评价 第 11 部分：全身毒性试验中的方法进行，应无急性全身毒性。

6.17 亚慢性毒性

按 GB/T 16886.11-2021 医疗器械生物学评价 第 11 部分：亚慢性毒性试验中的方法进行，应无亚慢性毒性。

6.18 植入试验

按 GB/T 16886.6-2022 医疗器械生物学评价 第 6 部分：植入后局部反应试验中的方法进行，组织反应轻度或无组织反应。

7. 检验规则

7.1 抽样方法和数量

7.1.1 在同一个生产周期中，同一生产线，同一批次原材料，同一方法生产出来的产品为一批。

7.1.2 在同一批的成品中随机抽取 3 倍检验量的最小包装单元留样。

7.2 复核检查

根据需要，应由专业检验机构实验室进行复核检验。

7.3 判定规则

7.3.1 检验项目 5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、5.10、5.11、5.12 全部符合规定，判为合格品，有 1 项及以上不符合本文件规定，则判为不合格品。

7.3.2 复核检验项目 5.2、5.3、5.4、5.5、5.6、5.7、5.8、5.9、5.10、5.11、5.12 全部符合规定，判为合格品，有 1 项及以上不符合本文件规定，则判为不合格品。

8. 储存和运输

8.1 储存

置于阴凉、干燥处密封保存。

8.2 运输

应符合医疗器械的运输条件。

9. 兽用可吸收干细胞支架用途及推荐用量

| 序号 | 用途 | 使用方式 | 用法用量 |
|--|------|------|---------------------------|
| 1 | 表面组织 | 填充 | 用量≥创面面积（避免暴露）。 |
| 2 | 深层组织 | 填充 | 用量=缺损体积（略大 10%-20%，防止移位）。 |
| 3 | 腔道组织 | 填充 | 用量=损伤段长度（管状支架需与两端正常组织衔接）。 |
| 体内使用干细胞支架一般在手术过程中使用 1 次，表面伤口可根据实际情况多次使用。 | | | |
| 提示：兽用可吸收干细胞支架，必须经过标准化生产流程——包括质量检测、制剂配方开发等环节，并与其他符合药用标准的辅料（如稳定剂、缓冲体系等）科学配伍，最终制成符合兽药、兽用医疗器械或生物制品规范的成品（如凝胶剂等），才能确保其安全性、有效性和稳定性，满足临床应用的基本要求。 | | | |