

ICS 71.100.40

CCS Y43

T/CVDA

团 体 标 准

T/CVDA XXXXX—XXXX

一次性细胞培养摇瓶

Disposable Cell Culture Erlenmeyer Flask

征求意见稿

XXXX - XX - XX 发布

XXXX - XX - XX 实施

中国兽药协会 发布

目 录

本文件按照 GB/T1.1 — 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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利，本文件的发布机构不承担识别这些专利的责任。

本文件由中国兽药协会提出并归口管理。

本标准起草单位：洛阳富道生物科技有限公司、石家庄鑫富达医药包装有限公司。

本标准主要起草人：王则、王锦君、李晓萌、李志军。

本标准为首次发布。

一次性细胞培养摇瓶

1 范围

本标准规定了一次性细胞培养摇瓶的术语和定义、环境与卫生控制要求、技术要求、检验方法、检验规则、标识、标签、包装、运输和贮存。

本标准适用于符合应用 USPVI 级聚碳酸酯（PC）、聚对苯二甲酸乙二醇酯（PETG）为主要原料，采用注塑、表面处理、组装、包装和灭菌等工艺制成的一次性细胞培养摇瓶。

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。

GB/T1.1-2020 标准化工作导则

ISO 10993-5 医疗器械生物学评价—第 5 部分：体外细胞毒性试验

《中国药典》通则 第四部 1101 无菌检查法

《中国药典》通则 第四部 1143 细菌内毒素检查法

《中国药典》通则 第四部 0541 电泳法

《中国药典》通则 第四部 0903 不溶性微粒检查法

3 术语和定义

3.1 一次性细胞培养耗材 Disposable Cell Culture Consumables

在细胞培养及相关操作中，为细胞提供生长环境、进行液体处理、储存或运输，经过无菌处理，设计为仅使用一次即丢弃的器件、器具或组件。

注 1：特指在兽用疫苗的研发与生产过程中，用于动物细胞（如 CHO 细胞等）进行悬浮培养的、经过预灭菌处理且仅供单次使用的无菌封闭系统。

3.2 细胞摇瓶 Erlenmeyer Flask

通常为锥形底设计的带盖培养瓶，由医用级聚碳酸酯（PC）或聚对苯二甲酸乙二醇酯（PETG）透明材料制成，盖子上设有透气膜（或滤膜）以保障气体交换并防止微生物污染。主要用于悬浮细胞的中小规模培养，通过放置在摇床上进行振荡来提供良好的传氧和混匀效果。摇瓶是种子细胞扩增、病毒接种培养前期等环节的基础工具。

4 环境与卫生控制要求

4.1 洁净车间要求

一次性细胞培养摇瓶的注塑、表面处理、组装、包装等所有暴露于产品内、外表面的工序，应在至少 ISO 14644-1 标准规定的 ISO 8 级（十万级）及以上的洁净环境中进行，兽用疫苗用产品应在更高等级的洁净区（如 ISO 7 级/万级）下进行，并配套严格的卫生清洁管理，以确保产品的低生物负荷、低内毒素及无核酸酶的质量要求。

4.2 卫生与污染控制

应建立全面的卫生与污染控制程序，对人员、物料、设备及生产过程进行有效管控。该程序至少应包括：人员卫生与更衣规范、物料与设备清洁消毒方法、洁净环境监测计划以及产品防护措施，以确保生产环境持续受控。

5 技术要求

5.1 原辅料要求

原料符合医用级（USPVI）的聚碳酸酯（PC）、聚对苯二甲酸乙二醇酯（PETG）为主要原料，并证明其符合相关法规要求的生物相容性评价报告。材料应具有稳定的化学性能、低析出性特性（用以疫苗、生物制品合规化生产的应符合溶析出相关法规要求），以确保其适用于细胞培养等生物应用场景。

5.2 外观要求

表面光泽，不缺胶、缩水，平整不变形，无明显黑点，内置刻度清晰，无划痕裂痕、料花、杂料、油、手印、气泡、飞边、水口位高等不良现象。

5.3 密封性要求

在规定的测试条件和维持时间内进行密封性测试，产品无任何可见的泄露现象（压力衰减、液体渗入）。

5.4 无菌要求

产品无菌保证水平达 10^{-6} ，经过一个确认过的灭菌过程，确保产品无菌。

5.5 细菌内毒素要求

细菌内毒素限量不超过 0.1EU/ml。

5.6 DNase/Rnase 要求

产品不含 DNase/Rnase。

5.7 体外细胞毒性试验要求

产品符合 0 级要求。

5.8 细胞生长试验

按照要求培养周期培养后，悬浮细胞细胞增殖倍数达到 10 倍以上。

5.9 不溶性微粒要求

每 1ml 工作液含 10 μ m 及以上微粒不超过 12 粒，25 μ m 及以上微粒不超过 2 粒。

6 检验方法

6.1 原材料验收要求

批原料入厂时，需核验供应商提供的符合性证书（COC）其所载明牌号、批号需与实物一致，首次供应商或原料牌号变更时须查验由具备资质的第三方检测机构出具的覆盖细胞毒性、致敏性和刺激性等生物相容性评价报告，并声明符合医用级（USPVI）聚碳酸酯（PC）、聚对苯二甲酸乙二醇酯（PETG）的相关法规要求。

6.2 外观要求

在自然光下，以正常视力或矫正到正常视力通过手臂长的距离(自然光下大约 0.6 米)内目测检验，及通过手直接接触手感方式检测。

6.3 密封性要求

瓶口密封，置于密封测试仪中，用水浸没，抽真空至真空度为 50kPa，维持 3 分钟，瓶内不得有进水或冒泡现象。

6.4 无菌要求

产品推荐采用钴-60 或者电子束辐照方式进行灭菌，采用辐照指示标签指示灭菌终点。辐照完成后，对指示标签进行观察，标签变色应符合要求。

产品按照《中国药典》通则 1101 无菌检查法测定。

6.5 细菌内毒素要求

按照《中国药典》通则 1143 细菌内毒素检查法测定。

6.6 DNase/Rnase 要求

6.6.1 制胶：用 1 $\times$ TAE buffer 配制 1.2%的琼脂糖凝胶，混匀后，加热煮沸，直至琼脂糖完全溶解，冷却至 65 $^{\circ}$ C，加入 Gel-red，混匀。

6.6.2 灌胶：倒入插好梳齿的胶板，待凝胶完全凝固后，轻轻取出点样梳，将胶板放入电泳槽中。在电泳槽中加入 1 $\times$ TAE buffer，高出凝胶表面 2mm 为宜。

点样：按照每孔 20 μ L 反应液的体系点样，使样品沉于加样槽底部。

6.6.3 电泳 样品槽一端靠近负极，另一端接近正极，盖好电泳槽盖，接上电机线，打开电泳仪电源，控制电压至 100~120V，电泳 30min。

6.6.4 观察与拍照：小心取出凝胶至托盘上，将凝胶放至蓝光观察仪或紫外观察仪中观察，样品电泳后应“条带清晰可见、无拖尾”。

6.7 体外细胞毒性试验要求

按照 ISO 10993-5 医疗器械生物学评价—第 5 部分：体外细胞毒性试验进行测定。

6.8 细胞生长试验

a) 观察：选取悬浮细胞进行传代，在显微镜下观察细胞，细胞应形态良好、饱满、透亮，无明显聚团和碎片，密度应符合后续实验或生产要求；

b) 离心重悬：将细胞收集至离心管中，1000~1200 rpm 条件下离心 5min，吸弃上清液，加入适量新鲜的完全培养基重悬细胞，将细胞密度调整至目标接种密度（例如： 2×10^5 cells/mL，此数值应根据特定细胞株的生长特性确定）；

c) 接种与培养：将调整好密度的细胞悬液按所需体积接种至细胞摇瓶中，将接种后的细胞摇瓶置于带摇床的二氧化碳培养箱中，在 37℃，5% CO₂ 条件下培养 96~120 小时，细胞增殖倍数应达到 10 倍以上。

6.9 不溶性微粒要求

按照《中国药典》通则 第四部 0903 不溶性微粒检查法测定。

7 检验规则

7.1 组批

产品以批为单位进行验收，以同一牌号、同一规格的原料、同一工艺连续生产的、质量一致的产品为一批。

7.2 检验分类

7.2.1 出厂检验

出厂检测项目按 6.2、6.3、6.4、6.5、6.8 的要求进行产品检验。

7.2.2 型式检验

有下列情况之一时，一般应进行型式检验：

- a) 新产品生产的试制定型；
- b) 正式生产后，供应商初次供货或者改变生产工艺或者变更原料生产，可能影响产品性能时；
- c) 正常生产时，每年至少进行一次型式检验；
- d) 停产三个月以上再恢复生产时；

- e) 出厂检验结果与上次型式检验有较大差异时;
- f) 国家监督抽检时。

型式检验项目为本标准全部项目。

7.3 判定

7.3.1 检验批的检验项目全部合格,则判该批产品合格。

7.3.2 无菌要求检验不合格,判定该批产品不合格。

7.3.3 除无菌要求以外的其他指标,如有一项不合格,则加倍抽取样品进行检验,如仍不合格则判该批产品不合格。

8 标志、标签、包装、运输、储存

8.1 标志、标签

产品包装上印有商标、产品名称、产品批号、生产日期、有效期、包装规格、生产厂家、生产地址。图案及文字清晰美观,不易褪色。

运输包装执行 GB/T191 的相关规定。

8.2 包装

纸箱做外包装,塑料袋做内包装;包装外表应清洁干燥、无破损,外包装应能保证产品在运输、储存中不受损坏和污染。

8.3 运输

运输过程中注意防晒。运输过程中不得与有毒、有害、有异味或影响产品质量的物品混装运输。

8.4 储存

本品贮存在通风干燥及不易受潮的场所,储存条件为常温、干燥、避光保存。