

以組織培養法評估塑膠製醫療器材 毒性試驗之可行性

趙磐華 陳作琳 游祥榮

摘 要

在送驗各項塑膠製醫療器材共計 54 件檢品，以組織培養法檢驗其對細胞的毒害性，並與目前所使用的家兔肌肉內植入法相比較。結果：兩者均呈陽性反應者計 4 件，均呈陰性反應者計 38 件，組織培養法呈陽性而肌肉內植入法陰性者計 12 件，肌肉植入法陽性而組織培養法陰性者則無。顯示以組織培養法檢出細胞毒害性之陽性率高出肌肉內植入法 22.2 %。故此法當可做為塑膠製醫療器材毒性檢驗評估之良好方法。

鍵語：組織培養法 (Tissue Culture)，細胞毒性檢驗 (Cytotoxicity Assay)，塑膠醫療器材 (Plastic Medical Practice)。

前 言

塑膠製醫療器材之毒性檢驗，目前歐美藥典所列的檢驗規格還一直沿襲採用 Brewster及Bryant 氏所發展的家兔肌肉內植入法¹。但是鑑於該法之判定須時彌久，敏感度差，且動物飼養花費龐大。因此，已經國外學者發展出細胞組織培養法以檢驗醫療器材的毒害性^{2,3}。本文即利用已建立之日本腦炎疫苗力價鑑定所使用的雞胚胎細胞培養技術，應用於塑膠製醫療器材之細胞毒性檢驗上，以評估新檢驗法廣泛應用的可行性。

材料與方法

一、材料：

健康白兔（體重 2 ~ 2.5 公斤）。10 日齡無特定病原雞胚卵。送驗之塑膠製醫療器材（包括注射筒、頭皮針、輸液管、輸血袋、靜脈點滴管等）計 54 件。USP Negative Control Plastic RS 及陽性對照品。

二、方法：

(一)家兔肌肉內植入法 (Rabbit Intramuscu-

lar Implantation Test)：參酌 USPXX 之 Implantation Test¹項操作、觀察與判定。

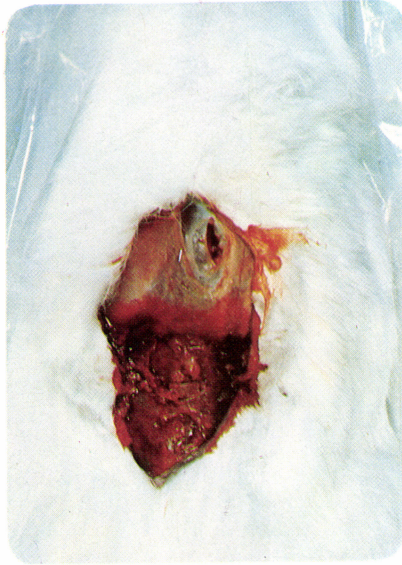
(二)組織細胞培養法 (Tissue Culture Method in Liquid Medium) 與前法相同之檢體分別置入已形成單層之雞胚胎細胞培養皿中（細胞數目為 $1.2 - 1.5 \times 10^6$ 個），皿內培養液維持 2 ml，（培養液成分為 MEM+5% 馬血清，置入 37°C CO₂ 定溫箱中培養 24 小時後移去培養液，細胞以 Giemsa 液染色並觀察鏡檢。

結 果

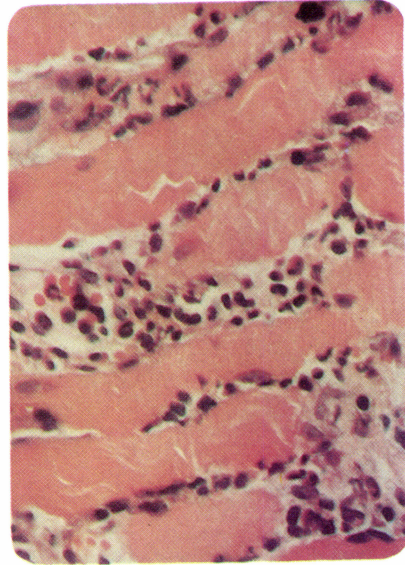
受檢的 54 件檢品，按照本次實驗在動物肌肉組織內病理變化（表一及圖一、二）及在細胞培養中對細胞毒害性反應（表一及圖三、四、五、六）等程度，而予以判定，試驗結果如表二。

討 論

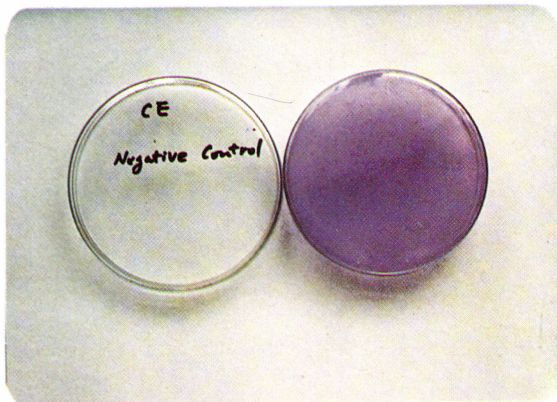
由本次試驗的結果顯示：對同一檢品，以細胞培養法檢出其細胞毒害性之陽性率高出於家兔肌肉內植入法達 22.2 %，且以肌肉法檢出反應陽性例（4 例），同時在組織培養法上亦能引起細胞死亡，



圖一 家兔肌肉植入法，植入部位之陽性反應（下）及陰性反應（上）之外觀變化比較。



圖二 陽性反應部位組織經病理切片染色後，可見肌肉間，炎症細胞之浸潤。



圖三 細胞組織培養法行細胞毒性檢驗之陰性對照，單層細胞經Giemsa 染色後，培養皿外觀呈均勻藍色。



圖四 細胞組織培養法行細胞毒性檢驗之陽性反應，引起單層細胞之脫落，經Giemsa 染色後，培養皿外觀，呈脫落之透明斑塊。

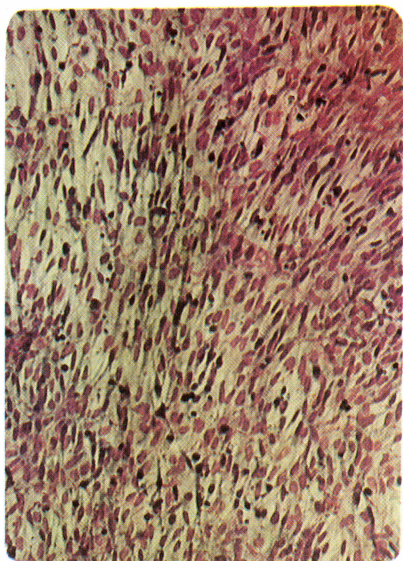
表一 家兔肌肉內植入法與細胞組織培養法檢驗細胞毒性反應陽性之肉眼變化與顯微細胞變化判定標準：

方 法	肉 眼 變 化	顯 微 變 化
肌 肉 內 植 入	廣泛性肌肉出血斑、 紅腫、破潰	壞死、糜爛、纖維癢 痕化、水腫、炎症反 應
組織細胞 培 養	檢品周圍出現清晰透 明區	細胞脫落、碎裂、細 胞核濃染

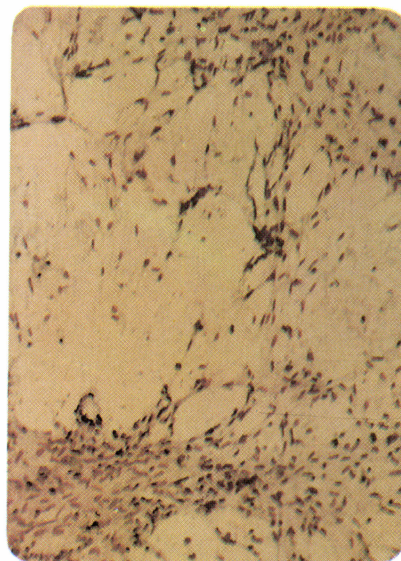
表二 送驗塑膠醫療器材 54 件檢體分別行家兔肌肉內植入法及組織細胞培養法檢定細胞毒性反應記錄：

肌肉 內植入	組織細胞 培養	陽 性		陰 性	
		陽	性	陰	性
陽	性	4 (7.4 %)		0 *	
陰	性	12 (22.2 %)		38 (70.4 %)	

* 表檢體之細胞毒性以肌肉內植入法可測出，而組織細胞培養法無法檢出者之數目



圖五 顯微鏡下：細胞毒性陰性反應之單層細胞，排列依然緊密，染色均一，細胞核大小均一。



圖六 顯微鏡下：細胞毒性陽性反應之單層細胞，因細胞死亡，核濃縮，細胞外形消失而脫落，排列紊亂而疏散。

脫落等細胞毒害性反應，相反地，在可引起細胞毒害性之 12 例檢品中，以肌肉植入法行之，對該移植部位之肌肉組織，卻不引起任何炎症，壞死之病變，換言之，以組織培養法檢驗塑膠製醫療器材之細胞毒害性，較之肌肉植入法為高，並可取代肌肉植入法，做為前項檢驗之理想初次篩選方法（Primary Screening Test）。細胞組織培養檢驗法檢出率高於肌肉植入法，其原因，依作者推斷，可能係存在於塑膠器材中之毒性物質，在與肌肉組織接觸時，受到動物體內代謝作用的影響（酵素等），使該檢品之毒害性物質導致破壞，以致細胞之毒害性降低或緩解，亦即不至引起細胞的死亡或組織病變的產生，而細胞培養法，由於檢品直接與培養生長完成細胞接觸，毒性物質無法受到其他外在因素的破壞。因此，稍高的濃度或任何物質溶於培養液後導致的酸鹼度的改變等，均很快的影響細胞膜內、外間的滲透性，進而破壞細胞膜，造成細胞的死亡。這種細胞膜直接與檢品之溶出物作用，以測定檢體是否含破壞細胞物質而造成細胞毒害的敏銳檢驗方法，可以應用於實際塑膠醫療器材安全性的檢驗，以提高使用是類器材的安全性。

與家兔肌肉內植入法相比較⁴：細胞組織培養法不但敏銳性高，尚且判定時間縮短（僅須 24 小時），檢體的形式不受拘限，且短時間內即可完成大

量檢品之檢驗，並且可同時進行其他相關細胞生理學方面的研究等優點。

細胞組織培養法亦有其本身技術的困擾，如細胞的污染問題，經常的細胞繼代保持其存活，頗耗人力等缺點。因此完善的細胞培養設備以及精湛技術而專一的細胞培養人員，成為發展細胞組織培養檢驗法的先決條件。

建立細胞組織培養法以檢驗醫療器材安全性在實際應用取代傳統肌肉內植入法，尚有三點問題必須繼續探討：(一)細胞種類：除了雞胚胎細胞外，鼠纖維芽細胞（Mouse fibroblast NCTS-929）L-Cell，人羊膜細胞（Human Amniotic Cell），及 KB-Cell（鼻咽癌細胞）³ 等均可做為受試培養的細胞，抉取適當細胞以獲得最高敏銳性是主要研究目標。(二)培養條件：包括培養液種類、培養時間等。(三)判定標準：包括判定最適時間、陰性與陽性反應判定之標準、非特异性反應之鑑定等。

參考文獻

1. Biological test-plastic implantation test. 1980. in "The United States Pharmacopeia XX", p. 952.
2. Rosenbluth, S. A. et al. 1965. *J. Pharm. Sci.* 54, 156-9, 1545-7.

3. Guess, W. L. and S. Habeman. 1968. *J. Biomed. Mater Res.* 2, 313-335.
4. Autian, J. 1975. *J. of Pharm. Sci.* 27, 1-12.

STUDY ON THE TISSUE CULTURE METHOD FOR SCREENING TOXICITY OF PLASTIC MEDICAL PRACTICE

EDWARD CHAO, THUO-LIN CHUNG AND SHIANG-RONG YU

ABSTRACT

A Tissue Culture Method (Fluid Medium) was developed to screen the toxicity of plastic materials used in medical practice, and comparing with Rabbit Intramuscular Implantation Test which we operate till now. Apparently, this method appears more effective and sensitive.

In a total of 54 cases we have tested, samples cytotoxicity which could test by both methods were 4 (7.4%), negative to both methods were

38 cases (70.4%). Samples that negative to Intramuscular Implant Method but positive to tissue culture method were 12 cases (22.2%). On the contrary, samples positive to tissue culture method but negative to muscle implant method was nil. So that to assess the toxicity of plastic materials used in medical practice, the tissue culture method appear its more practible and valuable.

Key words: Tissue Culture, Cytotoxicity Assay, Plastic Medical Practice.