



中国认可
国际互认
检测
TESTING
CNAS L10066

检测报告

报告编号: SSMT-R-2022-03224-01A

样品名称: 聚己内酯

检测项目: 体外细胞毒性试验

检测依据: ISO 10993-5:2009

检测单位

江苏科标医学检测有限公司

江苏省常州市武进区长扬路9号C4栋

委托单位

深圳光华伟业股份有限公司

深圳市南山区粤兴二道6号武汉大学深圳
产学研大楼A403-I及A901

江苏科标医学检测有限公司

中国·江苏·常州市武进区长扬路9号C4栋 邮编: 213161 电话: 0519-83587899 传真: 0519-83587899 网址: www.jcssmt.com

文件编号: SHT-ASS-A11 2.0版

第1页共10页

目 录

说 明 3

检测结论 4

试验确认与签名 5

1.0 目 的 6

2.0 参考标准 6

3.0 试验样品确认 6

4.0 试验系统鉴别 7

5.0 试验系统确认 7

6.0 仪器设备与试剂 7

7.0 试验设计 8

8.0 评价标准 9

9.0 试验结果 9

10.0 试验偏离声明 10

11.0 记录 10

12.0 保密协议 10

说 明

1. 对本报告有异议者, 请于收到报告之日起十五天内提出复核申请。
2. 检测报告涂改或无检测专用章无效。
3. 检测报告无编制人、审核人及检测报告签发人签字无效。
4. 送样委托检验, 本检验机构仅对来样负责。
5. 除全文复制外, 未经本机构批准不得部分复制报告, 以确保报告不被部分摘用。
6. 本试验在分场所进行, 分场所地址为: 江苏省常州市武进区长扬路 9 号 E3 栋。

检测结论

该试验是为了评价试验样品的潜在细胞毒性。将试验样品浸提液与生长旺盛的 L-929 细胞培养 (37 °C, 5% CO₂) 24 小时后, 观察细胞形态, 用 MTT 法检测结果。结果显示 100% 样品浸提液的存活率为 89.2%, 对照组结果显示本次试验结果有效。

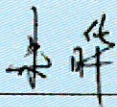
在本试验条件下, 试验样品的浸提液对 L-929 细胞无潜在毒性影响。

试验确认与签名

试验操作依照标准操作规程，试验过程恪守 CNAS-CL01:2018《检测和校准实验室能力认可准则》（等同 ISO/IEC17025:2017）、RB/T214-2017《检验检测机构资质认定能力评价 检验检测机构通用要求》。

收样日期:	2022 年 06 月 14 日
试验开始日期:	2022 年 06 月 20 日
试验结束日期:	2022 年 06 月 22 日
报告完成日期:	2022 年 06 月 28 日

编制:



2022.06.28

日期

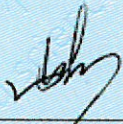
审核:



2022.06.28

日期

签发:


授权签字人

2022.07.07

日期



1.0 目的

该试验目的是为了评价试验样品对 L-929 细胞的生物学反应。

2.0 参考标准

医疗器械生物学评价 第 5 部分: 体外细胞毒性试验 ISO 10993-5:2009

3.0 试验样品确认

3.1 试验样品 (委托单位负责提供并确认以下样品信息)

样品名称: 聚己内酯

灭菌状态: 未灭菌

型号: 未提供

规格: 未提供

批号: 未提供

性状: 固体

颜色: 见样品照片

密度: 未提供

稳定性: 未提供

溶解度: 未提供

样品材料: 未提供

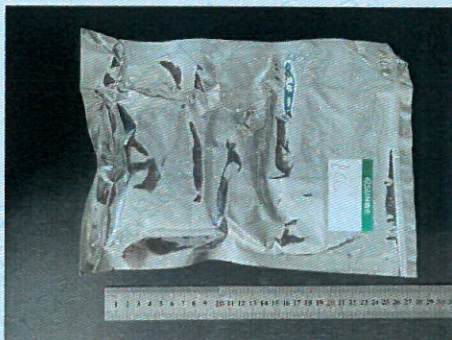
包装材料: 未提供

保存条件: 室温

制造商: 深圳聚生生物科技有限公司

制造商地址: 深圳市龙华区大浪街道新石社区颐丰华创新产业园 9 号 3 层

样品照片:



3.2 对照样品

3.2.1 阴性对照: 高密度聚乙烯

制造商: 江苏海翱思汇生物科技有限公司

规格: 1.6 mm 厚, 300*300 mm

批号: M02F017

性状: 固体

颜色: 白色

保存条件: 室温

3.2.2 阳性对照: ZDEC

制造商: 东京化成工业株式会社

规格: 25 g

批号: DUDQG-JF

性状: 固体

颜色: 白色

保存条件: 室温

使用浓度: 0.1%

3.2.3 空白对照: 含 10%胎牛血清的 MEM 培养基

性状: 液体

颜色: 粉红色

保存条件: 4 °C

4.0 试验系统鉴别

该试验用 L-929 细胞, 细胞系来自美国菌种保藏中心 CCL1(NCTC clone 929)。

5.0 试验系统确认

5.1 L-929 细胞用来检测细胞毒性试验是因为其对试验样品浸提液反应灵敏。

5.2 试验样品通过浸提液(用一种与试验系统相容的载体浸提)与试验系统接触, 被认为是最佳给药途径, 也是标准建议的方法。

6.0 仪器设备与试剂

6.1 仪器设备

CO₂ 培养箱 (SSMT-279)

生物显微镜 (SSMT-278)

洁净工作台 (SSMT-441)

台式低速离心机 (SSMT-048)

恒温培养摇床 (SSMT-004)

电子天平 (SSMT-432)

酶标仪 (SSMT-470)

微量振荡器 (SSMT-311)

pH 计 (SSMT-563)

6.2 试剂

胎牛血清

MEM 培养基

胰酶

青霉素-链霉素

PBS

MTT

异丙醇

7.0 试验设计

7.1 样品制备

无菌操作。按下表比例 (样品: 浸提液体积) 浸提样品, 于 37℃、60 rpm 恒温培养摇床浸提 24 小时。浸提结束后检查浸提变化, 浸提液立即用于实验, 浸提液未进行过滤、离心、稀释等操作, 未调节 pH。同法制备空白对照、阴性对照和阳性对照样品。

表 1 样品制备

无菌制备		无菌惰性容器中振荡浸提				最终浸提液	
样品制备方式	实际取样	浸提溶剂	浸提比例	浸提溶剂体积	浸提条件	是否澄清	pH
随机取样	1.00 g	含 10%胎牛血清的 MEM 培养基	0.2 g : 1 ml	5.0 ml	37 °C, 24 h	是	8.53

7.2 试验方法

试验过程无菌操作;

将 L-929 细胞培养在含 10%胎牛血清和抗生素 (青霉素 100 U/ml, 链霉素 100 µg/ml) 的 MEM 培养基中, 置 37 °C、5% CO₂ 培养箱中培养。用胰酶消化细胞制成细胞悬液, 离心 (200 g, 3 min), 然后将细胞重新分散于新鲜培养基中, 调整细胞密度为 1×10⁵ cells/ml 的细胞悬液;

接种上述细胞悬液到 96 孔培养板中, 每孔 100 µl, 置二氧化碳培养箱中培养 24 小时 (5% CO₂, 37 °C, 湿度>90%);

待细胞长成单层后, 吸出原培养基, 分别加入 100 µl 不同浓度的试验样品浸提液 (100%、75%、50%、25%)、空白对照液、阳性对照液 (100%) 和阴性对照液 (100%), 置 37 °C, 5% CO₂ 培养 24 小时, 每组做 6 个平行样;

培养 24 小时后, 取出 96 孔板, 在显微镜下做细胞形态学观察, 然后吸除液体, 每孔加入 50 µl MTT (1 mg/ml), 置二氧化碳培养箱中培养 2 小时, 吸弃上清, 每孔加入 100 µl 异丙醇溶解结晶; 微孔板振荡器震

荡 10 min, 在酶标仪上以 570 nm 测量吸光度 (参照 650nm)。

7.3 统计方法

均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) ;

存活率 (%) = $100 \times OD_{570e} / OD_{570b}$

式中: OD_{570e} ——试验样品/阴性对照/阳性对照光密度平均值;

OD_{570b} ——空白光密度平均值。

7.4 细胞形态描述

表 2 细胞形态描述

级别	全部培养细胞观察
0	胞浆内有离散颗粒, 无细胞溶解, 无细胞增殖下降情况。
1	不超过 20%的细胞呈圆缩、疏松贴壁、无胞浆内颗粒或显示形态学方面的改变; 偶见细胞溶解; 仅观察到轻微的细胞生长抑制现象。
2	不超过 50%的细胞呈圆缩、无胞浆内颗粒, 无大范围细胞溶解; 可观察到不超过 50%的细胞生长抑制现象。
3	不超过 70%的细胞层包含圆缩细胞或溶解细胞; 细胞层未完全破坏, 但可观察到超过 50%的细胞生长抑制现象。
4	细胞层几乎完全或完全破坏。

8.0 评价标准

- 8.1 存活率较低时, 试验样品潜在的细胞毒性较高;
- 8.2 如存活率下降到<空白的 70%, 则具有潜在的细胞毒性;
- 8.3 试验样品 50%浸提液存活率宜至少与 100%浸提液的存活率相同或较高, 否则宜重复试验;
- 8.4 100%试验样品浸提液的存活率%为最终结果。

9.0 试验结果

表 3 试验结果

组别	$\bar{x} \pm s$	存活率%	浸提液作用细胞后镜下 观察形态
空白对照	0.921±0.026	100.0	0
阴性对照	0.884±0.032	95.9	0
阳性对照	0.023±0.013	2.5	4
100%样品浸提液	0.822±0.034	89.2	0
75%样品浸提液	0.831±0.026	90.2	0
50%样品浸提液	0.831±0.019	90.3	0

25%样品浸提液	0.852±0.017	92.4	0
质量检查	空白 OD ₅₇₀ 平均值≥0.2; 左（第 2 列）、右（第 11 列）两列空白平均值与全部空白平均值相差不大于 15 %; 试验符合接受标准。		
结论	在本次试验条件下，试验样品的浸提液对 L-929 细胞无潜在毒性影响。		

10.0 试验偏离声明

本次试验严格按照标准操作规程执行，未发生影响实验数据有效性的偏离。

11.0 记录

所有与本次试验有关的原始数据和记录以及最终报告的拷贝都被保存在科标医学档案文件中。

12.0 保密协议

签订检测委托合同即认为双方接受保密协议。

