



中国认可
国际互认
检测
TESTING
CNAS L1446

深圳市医疗器械检测中心

检验报告



报告编号：WD20240508

检品名称：聚左旋乳酸微球PLLA微球

受检单位：深圳光华伟业股份有限公司

生产单位：深圳聚生生物科技有限公司

检验类别：委托检验

签发日期：2024年05月13日

扫码验证报告



提取码: 468726

说 明

- 一、 报告无检验机构检验报告专用章或检验单位公章无效。
- 二、 除全文复制外，报告未经检验机构书面批准不得部分复制。
- 三、 复制报告未重新加盖检验机构检验报告专用章或检验单位公章无效。
- 四、 报告无批准人签字无效。
- 五、 报告涂改无效。
- 六、 对报告若有异议，应于收到报告之日起7个工作日内以书面方式向检验单位提出，逾期不予受理。
- 七、 报告结果仅适用于收到的样品。
- 八、 对委托送样的样品及信息的真实性，由委托方负责。
- 九、 报告无CMA标志，仅作为科研、教学、内部质量控制或医疗器械产品注册与备案之用。
- 十、 检验项目有“*”标记的表示该项目或检测标准（方法）未在中心CNAS认可范围内。
- 十一、 可扫描电子报告中的二维码或在我院（中心）“网上业务受理平台（MYLIMS）”（<https://mylims.szidc.org.cn/>）首页查询报告真伪。

深圳市医疗器械检测中心

网址：<http://www.szidc.org.cn>

邮箱：szidc-md@szidc.org.cn

地址：深圳市南山区高新中二道28号

电话：0755-26031121、 86541379

传真：0755-86541379

邮编：518057

深圳市医疗器械检测中心

检验报告

报告编号: WD20240508

第 1 页 (共 5 页)
SZIDC/F-7.8-001-15-09

样品名称	聚左旋乳酸微球 PLLA 微球		
检验类别	委托检验	产品编号/ 批号	/
商 标	esun	型号规格	粘均分子量: 6 万
生产日期	2024 年 01 月 23 日	收检日期	2024 年 03 月 05 日
委 托 方	深圳光华伟业股份有限公司		
委托方地址	深圳市南山区粤海街道高新区社区高新南九道 55 号微软科通大厦 15A		
生产单位	深圳聚生生物科技有限公司		
生产地址	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		
评价项目	体外细胞毒性试验		
评价依据	GB/T 16886.5-2017/ISO 10993-5:2009 《医疗器械生物学评价 第 5 部分: 体外细胞毒性试验》		
试验总结	<p>被测样品聚左旋乳酸微球 PLLA 微球, 采用 10% 胎牛血清的 MEM 制备浸提液, 根据 GB/T 16886.5-2017/ISO 10993-5: 2009 《医疗器械生物学评价 第 5 部分: 体外细胞毒性试验》中推荐的四唑盐 (MTT) 比色法进行体外细胞毒性试验。</p> <p>将 L929 细胞接种于 96 孔培养板, 置 5% CO₂ 培养箱 37°C 培养 24 h 后弃去原培养液, 分别加入空白对照、阴性对照浸提液、阳性对照、样品浸提液 (4 组不同浓度), 每组设 6 孔。培养 24 h 后, 小心弃去原培养液, 每孔加入 50 μL 的 MTT 溶液再孵育 2 h。然后弃去 MTT 溶液, 每孔加入 100 μL 异丙醇, 在酶标仪 570 nm 波长 (参比波长 650 nm) 下测定光密度并计算存活率。</p> <p>在本试验条件下, 阳性对照组和阴性对照组的存活率 (%) 为 16% 和 100%, 被测样品 100%, 50%, 25% 和 12.5% 浸提液的存活率 (%) 为 96%、99%、99% 和 102%。</p>		
备 注	报告中 “/” 表示此项空白		
授权签字人	刘亮	签发日期	2024 年 05 月 13 日 检验检测专用章



深圳市医疗器械检测中心

检验报告

报告编号: WD20240508

第 2 页 (共 5 页)
SZIDC/F-7.8-001-15-09

前言

被测样品根据 GB/T 16886.5-2017/ISO 10993-5: 2009《医疗器械生物学评价 第 5 部分: 体外细胞毒性试验》附录 C 中推荐的四唑盐 (MTT) 比色法进行体外细胞毒性试验。

被测样品收到日期为 2024 年 03 月 05 日, 对样品进行浸提日期为 2024 年 03 月 19 日至 2024 年 03 月 20 日, 试验结束日期为 2024 年 03 月 21 日。

材料

委托单位提供的样品名称和处理方式如下:

样品名称:	聚左旋乳酸微球 PLLA 微球
编号/批号:	/
贮存条件:	2-8°C 储存。
细胞株:	L929 小鼠成纤维细胞, 为 GB/T 16886.5-2017/ISO 10993-5: 2009 所推荐的细胞系, 该细胞来源于中国典型培养物保藏中心。细胞培养物置 5% CO ₂ 培养箱 37°C 培养至对数增长期备用。
含酚红 MEM 培养基:	赛默飞世尔科技公司产品, 含 Earle's 盐, L-谷氨酸和酚红。(文中未做特别说明的 MEM 培养基皆为该种 MEM 培养基)。
不含酚红 MEM 培养基:	赛默飞世尔科技公司产品, 含 Earle's 盐, 不含 L-谷氨酸和酚红。
胎牛血清:	上海源培生物科技股份有限公司产品。
青霉素-链霉素溶液 (双抗):	赛默飞世尔科技公司产品。
噻唑蓝 (MTT):	默克公司产品。 MTT 用不含酚红的 MEM 培养基配制成 1 mg/mL 的溶液, 配好后 0.22 μm 无菌过滤器过滤备用, 溶液应当天使用。
二甲基亚砜 (DMSO):	默克公司产品。
异丙醇:	广州化学试剂厂产品。
浸提介质:	含 10% 胎牛血清和 1% 双抗 (青霉素 100 IU/mL, 链霉素 100 μg/mL) 的 MEM 培养基。
样品浸提液制备:	在无菌条件下, 根据委托方要求, 称取样品 1.25 g, 按照 0.2 g/mL 的比例加入 6.25 mL 的浸提介质, 置 37°C 振荡条件下浸提 24 h 为浸提原液 (样品浸提液应立即使用)。浸提原液澄清无明显肉眼可见颗粒物。使用前 0.22 μm 无菌滤膜过滤后用 10% 胎牛血清的 MEM 培养基对浸提滤过液 (100%) 做倍比稀释, 使成为 100%、50%、25%、12.5% 浸提液。
阴性对照浸提液制备:	高密度聚乙烯 2.00 g, 在无菌条件下, 按 0.2 g/mL 的比例加入 10.00 mL 10% 胎牛血清的 MEM, 置 37°C 下浸提 24 h, 使用前 0.22 μm 无菌滤膜过滤。
阳性对照:	含 10% DMSO 的 10% 胎牛血清 MEM (1×MEM)。
空白对照:	10% 胎牛血清 MEM (1×MEM)。

深圳市医疗器械检测中心

检验报告

报告编号: WD20240508

第 3 页 (共 5 页)
SZIDC/F-7.8-001-15-09

方法

试验步骤:

1、细胞悬液制备

- 将在 MEM 培养基中培养 48 h~72 h 处于汇合状态的 L929 单层细胞用酶液消化。(胰蛋白酶/EDTA)
- 将细胞在培养液中重悬浮并将细胞浓度调整到 1×10^5 个/mL。

2、MTT 比色法

- 使用多道移液器, 将 100 μ L 培养基分别加到一块 96 孔板的外围的孔中。在剩下的孔中, 分别加入 1×10^5 个/mL 细胞悬液, 设空白 (左右 2 组)、阴性对照、阳性对照、样品组, 每组设 6 个平行孔。
- 孵育 (5% CO_2 , 37°C, 湿度 >90%) 24 h 以使细胞形成半汇合状态。
- 24 h 孵育后, 吸去培养细胞的培养液, 每孔加入 100 μ L 受试液包括合适浓度的样品浸提液、阴性对照、阳性对照或者空白。对受试样品浸提液四个不同的浓度进行测试 (100%、50%、25%、12.5%)。
- 继续孵育 (5% CO_2 , 37°C, 湿度 >90%) 24 h。
- 受试 24 小时后, 在倒置显微镜下检查 96 孔板和细胞形态, 记录下样品浸提液细胞毒性导致的细胞形态的改变。
- 96 孔板检查完后, 小心地从板中移除培养液。每孔加入 50 μ L 的 MTT 溶液并在 37°C 下孵育 2 h。然后弃去 MTT 溶液, 每孔加入 100 μ L 异丙醇。96 孔板振荡后, 在酶标仪 570 nm 波长 (参比波长 650 nm) 下测定光密度。按下式与空白相比等式比较计算存活率下降。

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

式中: OD_{570e} ——试验样品浸提液光密度平均值

OD_{570b} ——空白光密度平均值

3、结果评价

- 空白 OD_{570} 平均值如 ≥ 0.2 , 则试验符合接受标准。
- 左、右两列空白平均值与全部空白平均值相差如不大于 15%, 则试验符合接受标准。
- 存活率下降到小于空白的 70%, 则具有潜在的细胞毒性。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。否则宜重复实验。

参照 GB/T 16886.5-2017/ISO 10993-5: 2009, 浸提液细胞毒性试验细胞形态分级见表 1。

表 1 浸提液细胞毒性试验细胞形态分级

分级	反应程度	全部培养细胞观察
0	无	胞浆内有离散颗粒, 无细胞溶解, 无细胞增殖下降情况。
1	轻微	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	轻度	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	中度	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	严重	细胞层几乎完全或完全破坏

深圳市医疗器械检测中心

检验报告

报告编号: WD20240508

第 4 页 (共 5 页)
SZIDC/F-7.8-001-15-09

结果

空白 OD₅₇₀ 平均值 ≥ 0.2 , 左、右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。

细胞镜下形态观察分级结果参见表 1, 阴性对照组为 0 级, 阳性对照组为 4 级, 被测样品 100%, 50%, 25% 和 12.5% 浸提液为 1 级, 1 级, 1 级和 0 级。

细胞存活率 (%) 结果见表 2。

表 2 光密度与存活率%

分组	空白组		阳性对照	阴性对照	100% 浸提液	50% 浸提液	25% 浸提液	12.5% 浸提液
	左侧	右侧						
孔 1	0.9360	0.8901	0.1473	0.9321	0.8838	0.8935	0.9209	0.9449
孔 2	0.9099	0.8991	0.1224	0.8915	0.8789	0.9126	0.9255	0.9277
孔 3	0.9220	0.9174	0.1338	0.9259	0.8973	0.9089	0.9033	0.9187
孔 4	0.9461	0.9553	0.1699	0.9340	0.9269	0.9655	0.9298	0.9649
孔 5	0.9566	0.9287	0.1638	0.9477	0.9114	0.9515	0.9296	0.9648
孔 6	0.9851	0.9999	0.1876	0.9799	0.8885	0.9091	0.9523	0.9937
平均光密度值	0.9426	0.9318	0.1541	0.9352	0.8978	0.9235	0.9269	0.9524
	0.9372							
存活率 (%)	/		16%	100%	96%	99%	99%	102%

结论

在本试验条件下, 阳性对照组和阴性对照组的存活率 (%) 为 16% 和 100%, 被测样品 100%, 50%, 25% 和 12.5% 浸提液的存活率 (%) 为 96%、99%、99% 和 102%。

结果和结论仅适用于被检测的试验样品。检测机构没有对结果进行进一步的评价, 委托单位负责解释这些数据是否适用于其它样品。所有步骤是按照 ISO 17025 进行的。

记录保存

与该研究相关的所有原始数据和一份最终报告保存在本中心存档。

深圳市医疗器械检测中心 检验报告

报告编号: WD20240508

第 5 页 (共 5 页)
SZDC/F-7.8-001-15-09

照片和说明

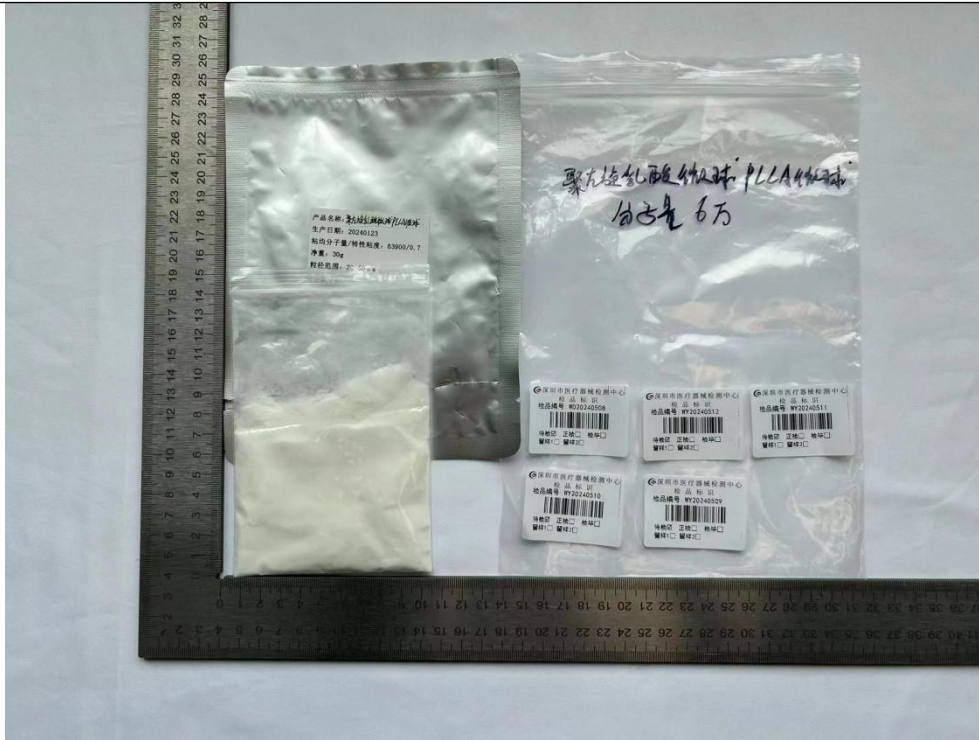


图 1 样品照片

样品描述

型号/规格: PLLA、PCL微球 生物学评价试验 浸提液制备说明

序号	分类编码	管理类别	产品部件	材料	与人体接触性质		最长接触时间	浸提表面	与人体接触部位总面积 (cm ²) / 重量 (g)
					分类	接触			
1					植入器械	组织/骨/牙本质	永久	内外表面	/
2									
3									
合计					/				
浸提比例			0.2克/毫升				浸提温度及时间 (细胞毒试验)	37℃ 24h	
							浸提温度及时间 (其他生物学评价试验)	37℃ 72h	

深圳光华伟业股份有限公司 (盖章)
2024年 05月 04日

图 2 取样说明

型号规格或其它说明

/

以下空白