



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0870.4—2014

医疗器械遗传毒性试验 第4部分：哺乳动物骨髓红细胞微核试验

Test for genotoxicity of medical devices—
Part 4: Mammalian bone marrow erythrocyte micronucleus test

2014-06-17 发布

2015-07-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布

中 华 人 民 共 和 国 医 药
行 业 标 准
医疗器械遗传毒性试验
第 4 部分：哺乳动物骨髓红细胞微核试验
YY/T 0870.4—2014

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲 2 号(100029)
北京市西城区三里河北街 16 号(100045)
网址 www.spc.net.cn
总编室:(010)64275323 发行中心:(010)51780235
读者服务部:(010)68523946
中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

*

开本 880×1230 1/16 印张 0.5 字数 8 千字
2014 年 12 月第一版 2014 年 12 月第一次印刷

*

书号: 155066 • 2-27658 定价 16.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107

前 言

YY/T 0870《医疗器械遗传毒性试验》，包括以下部分：

- 第 1 部分：细菌回复突变试验；
- 第 2 部分：体外哺乳动物细胞染色体畸变试验；
- 第 3 部分：用小鼠淋巴瘤细胞进行的体外哺乳动物细胞基因突变试验；
- 第 4 部分：哺乳动物骨髓红细胞微核试验；
- 第 5 部分：哺乳动物骨髓染色体畸变试验。

本部分为 YY/T 0870 的第 4 部分。

有关其他方面的遗传毒性试验将有其他部分的标准。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

本部分参考 OECD No.474(1997)《哺乳动物红细胞微核试验》并结合医疗器械/材料自身特点制定的。

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。

本部分由国家食品药品监督管理总局提出。

本部分由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会(SAC/TC 248)归口。

本部分主要起草单位：国家食品药品监督管理局济南医疗器械质量监督检验中心。

本部分参加起草单位：四川医疗器械生物材料和制品检验中心、国家食品药品监督管理局北大医疗器械质量监督检验中心。

本部分主要起草人：侯丽、王昕、刘成虎、袁瞰、林红、韩建民。

引 言

GB/T 16886.3 中给出的检测潜在遗传毒性物质的试验方法均为经济合作与发展组织(OECD)《化学品测试指南》中规定的方法,但这些方法是针对化学品的特性制定而成,同时未给出详细的试验步骤,因此不适宜直接用于医疗器械/材料的检测。YY/T 0870 的本部分参照 OECD 试验方法基本原则,并根据医疗器械/材料的特性对试验方法进行了适当的修改,规定了详细的试验步骤,可作为 GB/T 16886.3 中遗传毒性试验的补充方法标准。

YY/T 0870 的本部分参照 OECD No.474(1997)方法,通过分析啮齿类受试动物骨髓样本中的嗜多染红细胞,以评价医疗器械/材料所诱发的成红细胞染色体或有丝分裂器的损伤。

医疗器械/材料中的遗传毒性物质作用于机体后可能会造成滞后的染色体片段或整条染色体的损伤并形成微核,YY/T 0870 的本部分通过检测试验动物骨髓样本红细胞中微核的形成,用以评价医疗器械/材料潜在的遗传毒性。

YY/T 0870 的本部分特别适用于评价那些需要考虑体内代谢、药物代谢动力学和 DNA 修复过程等因素的致突变危害。YY/T 0870 的本部分对于进一步研究体外系统已检测到的致突变作用也是有用的。如果有证据表明受试物质或活性代谢产物不能到达相应的靶组织内,则 YY/T 0870 的本部分不适用。

医疗器械遗传毒性试验

第4部分：哺乳动物骨髓红细胞微核试验

1 范围

YY/T 0870 的本部分规定了医疗器械/材料诱导哺乳动物骨髓红细胞微核形成试验方法。

注：口腔材料的哺乳动物红细胞微核试验见 YY/T 0127.12。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。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/T 16886.1 医疗器械生物学评价 第1部分：风险管理过程中的评价与试验

GB/T 16886.2 医疗器械生物学评价 第2部分：动物福利要求

GB/T 16886.3 医疗器械生物学评价 第3部分：遗传毒性、致癌性和生殖毒性试验

GB/T 16886.12 医疗器械生物学评价 第12部分：样品制备与参照样品

YY/T 0870.2—2013 医疗器械遗传毒性试验 第2部分：体外哺乳动物细胞染色体畸变试验

3 术语和定义

GB/T 16886.1、GB/T 16886.2、GB/T 16886.3 和 GB/T 16886.12 界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1

微核 **micronuclei**

在有丝分裂末期，由滞后的染色体断片或整条染色体生成的，分离或附属于细胞主核的小核。

3.2

正染红细胞 **normochromatic erythrocyte; NCE**

成熟的红细胞，因缺乏核糖体，可以用选择性核糖体染料与未成熟的嗜多染红细胞区分。

3.3

嗜多染红细胞 **polychromatic erythrocyte; PCE**

未成熟的红细胞，处于发育中期，仍含有核糖体，故可用选择性核糖体染料与成熟的正染红细胞区分。

4 主要设备

压力蒸汽灭菌器、解剖器械、生物显微镜等。

5 试剂

试剂按 YY/T 0870.2—2013 的附录 B 中规定的方法制备或购买市售商品。全部试剂除注明外，均

为分析纯,试验用水为蒸馏水。

6 实验动物

6.1 总则

所有的动物试验应在经国家认可机构批准并符合实验室动物福利全部适用法规的实验室内进行,并且还应符合 GB/T 16886.2 的要求。

6.2 动物选择

推荐使用小鼠。7 周龄~12 周龄。如果已经证实某品系动物脾脏不清除有微核的嗜多染红细胞,或对引起染色体结构或数目畸变的供试物检测有足够的敏感性,则此种动物可以选用。每组小鼠数量至少为 10 只,雌雄各半。试验开始时,每种性别试验动物间体重变化宜最小且不超过平均体重的 $\pm 20\%$ 。

注:宜根据器械的预期用途,调整试验动物的性别比例。

7 样品制备

宜根据 GB/T 16886.12 的原则,制备试验液。宜使用适宜的极性和/或非极性溶剂作为浸提介质。若使用未知的浸提介质,应提供其相容性资料。如怀疑试验样品可能对试验动物产生毒性体征或骨髓嗜多染红细胞比例降低时,应进行预试验。

注 1: ISO 10993.3 正在修订,当新的样品制备方法在未来标准中得到确认后即可采用。

注 2: 与经典的化学物全身毒性试验不同,医用材料一般得不到 LD₅₀ 的剂量值。若采用浸提液进行试验,可考虑单剂量组试验(即试验样品原液或 100% 的浸提原液),但宜对试验所采用的剂量范围提供相应的支持性数据。

8 对照样品制备

8.1 阴性对照:同批号试验样品的浸提介质,不加试验样品同条件制备。

8.2 阳性对照:阳性对照组预期在体内产生的微核应高于本底值。应选择适宜的阳性对照剂量以得到阳性结果。如可能,宜考虑利用与受试物化学结构相关的阳性对照(见表 1)。

表 1 阳性对照物示例

化学名称	CAS 号
三亚乙基密胺(triethylenemelamine)	51-18-3
甲磺酸乙酯(ethyl methanesulphonate)	62-50-0
乙基亚硝基脲(ethyl nitrosourea)	759-73-9
丝裂霉素 C(mitomycin C)	50-07-7
环磷酰胺一水合物(cyclophosphamide, monohydrate)	59-18-0 (6055-19-2)

9 操作步骤

9.1 预实验

如怀疑试验样品可能对试验动物产生毒性时,应进行预试验。宜至少设置 3 个剂量水平,覆盖毒性从最大到小或无毒性。高剂量组应达到不产生动物死亡的最大剂量。高于该剂量即有可能引起动物死亡,高剂量也可定义为骨髓产生某些毒性体征的剂量(如骨髓中不成熟红细胞占总红细胞的比例减少)。用于确定剂量范围的预实验,步骤应与正式试验相同。

9.2 试验动物处理

宜根据实验动物的大小来确定一次性最大给液量。推荐小鼠按最大量不超过 20 mL/kg 体重的供试液剂量分别对各组实验动物进行两次腹腔注射或尾静脉注射,连续 2 d。对照组采用相同的处理方式,推荐环磷酰胺的注射剂量为 50 mg/kg。根据细胞周期和不同物质的作用特点,可先做预试,确定取样时间。通常采用 30 h 处理法。即第 1 次注射后 24 h 进行第 2 次注射,6 h 后处死试验动物。

9.3 骨髓样本制备

以人道方式处死试验动物后,立即从其股骨/胸骨中采集骨髓细胞并制片。

9.4 固定

将推好晾干的骨髓片放入染色缸中,用甲醇溶液固定 10 min~15 min,取出晾干,当日固定后保存。

9.5 染色

将固定晾干后的涂片,用新鲜配制的 Giemsa 染液染色 10 min~15 min,然后立即用 pH6.8 的磷酸盐缓冲液或蒸馏水冲洗、晾干、标记后置阴凉干燥处保存。

9.6 观察计数

9.6.1 采用双盲法阅片。首先在低倍镜下进行观察,选择分布均匀,染色较好的区域,在油镜下观察计数。PCE 呈灰蓝色,NCE 呈橘黄色。细胞中含有的微核多数呈圆形,边缘光滑整齐,嗜色性与核质一致,呈紫红色或蓝紫色,直径通常为红细胞的 $1/20 \sim 1/5$ 。一个细胞内可出现一个或多个微核,当出现多个微核时仍按一个计数。

9.6.2 每只动物为一个观察单位。当雌、雄动物之间无明显的性别差异时可合并计算结果,否则宜分别计算每组中的雌、雄动物含微核 PCE 细胞的均值。

9.6.3 计数 1 000 个 PCE 细胞中含微核的 PCE 细胞数,微核率以千分率表示。

9.6.4 计数 200 个红细胞中 PCE 与 NCE 的比值,用于判定供试液的细胞毒性。当试验组的 PCE/NCE 值与阴性对照组相比具有显著性差异时,表明供试液细胞毒性过大,试验结果不可靠。

9.6.5 试验组未成熟红细胞占红细胞总数的比例不应少于阴性对照组的 20%。

10 数据处理

一般采用泊松分布、卡方检验等统计学方法对试验数据进行统计分析。

11 结果判定

11.1 判断阳性结果的标准为：与阴性对照组相比，与剂量相关的有微核的嗜多染红细胞数增加，或在单一剂量组有微核的嗜多染红细胞数显著增加。应首先考虑结果的生物学意义。统计学方法可以用于评价试验结果。统计学的显著性不应是确定阳性结果的唯一因素。可疑的结果应该经进一步试验，最好改变试验条件。结果不符合上述判定要求的，则认为在本试验条件下，试验结果为阴性。一般阴性对照组的微核率 $<0.5\%$ ，但应有本试验室所用实验动物的自发微核率作参考。

11.2 微核试验阳性结果表明，供试物引起试验动物染色体损害或有丝分裂器损害产生微核；阴性结果表明，在该试验条件下，供试物不引起试验动物骨髓嗜多染红细胞微核率增加。

11.3 宜考虑供试样品或其代谢物到达血液循环或靶组织的可能性。

12 试验报告

试验报告中应包含下列信息：

- a) 试验样品名称、规格型号和批号；
- b) 试验和对照样品制备方法；
- c) 试验动物的品系、年龄和体重；
- d) 试验条件和试验步骤；
- e) 试验结果；
- f) 结果评价；
- g) 结论。



YY/T 0870.4—2014

版权专有 侵权必究

*

书号：155066·2-27658

定价：16.00 元