

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0870.1—2013

医疗器械遗传毒性试验 第 1 部分：细菌回复突变试验

Test for genotoxicity of medical devices—
Part 1: Bacterial reverse mutation test

2013-10-21 发布

2014-10-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布



前 言

YY/T 0870 的总标题是《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。

有关其他方面的遗传毒性试验将有其他部分的标准。

本部分为 YY/T 0870 的第1部分。

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

YY/T 0870 的本部分是参考 OECD 471—1997《细菌回复突变试验》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：国家食品药品监督管理局天津医疗器械质量监督检验中心、国家食品药品监督管理局北京医疗器械质量监督检验中心。

本部分主要起草人：曾冬明、黄经春、于兆琴、陶剑、汤菊莉。

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 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. 471(1997)方法,有或无代谢活化系统的情况下,通过观察医疗器械/材料诱导组氨酸营养缺陷型鼠伤寒沙门氏菌株(his-)和色氨酸营养缺陷型大肠杆菌菌株的突变情况,以评价其潜在的致突变性。

点突变是许多人类遗传性疾病的原因。有确切的证据表明,体细胞的癌基因和肿瘤抑制基因的点突变与人类和实验动物的肿瘤形成有关。许多试验菌株因具有多种特性,如回复位点的 DNA 序列、细胞对大分子通透性的增加、DNA 修复系统的缺失或 DNA 修复过程中错配的提高等,而使得它们对突变的检测更为敏感。其中,细菌回复突变试验具有快捷、廉价并且相对容易操作等优点,可用来检测 DNA 碱基对的替代、增加或缺失,为遗传毒性物质诱导的突变类型提供有用的信息。

医疗器械遗传毒性试验

第 1 部分:细菌回复突变试验

1 范围

YY/T 0870 的本部分规定了医疗器械/材料细菌回复突变试验方法。

本部分推荐使用平板掺入法。

注:口腔材料的 Ames 试验见 YY/T 0127.10。

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 16886.3 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

3 术语和定义

GB/T 16886.1、GB/T 16886.3 和 GB/T 16886.12 界定的术语和定义适用于本文件。

4 主要设备

生物安全柜、电热干燥箱、恒温培养箱、恒温水浴箱、恒温振荡水浴箱、压力蒸汽灭菌器、低温高速离心机、低温冰箱(-80℃)或液氮罐、匀浆器、菌落计数仪和电子天平等。

5 活化系统、培养基和试剂

试验用活化系统(S9 和 S9 混合液)、培养基和试剂按附录 A 和附录 B 的规定制备或购买市售产品。

6 菌株及其鉴定和保存

6.1 菌株

本部分宜至少采用 4 株鼠伤寒沙门氏菌突变型菌株进行试验,推荐的菌株组合为:

a) 鼠伤寒沙门氏菌株 TA1537 或 TA97 或 TA97a;

b) 鼠伤寒沙门氏菌株 TA98;

c) 鼠伤寒沙门氏菌株 TA100;

d) 大肠杆菌 WP2 uvrA, 或 WP2 uvrA(pKM101), 或鼠伤寒沙门氏菌株 TA102;

e) 鼠伤寒沙门氏菌株 TA1535(可供选择)。

注:为了检测交联突变剂,所选菌株中最好包括 TA102 或增加一种 DNA 易修复的大肠杆菌株(如 WP2 或 WP2(pKM101))。

6.2 菌株特性

菌株特性应与表1相符。突变型菌株的某些特性容易丢失或变异,在下列情况下,应进行菌株基因型的鉴定并形成文件:

- 在收到培养菌株后;
- 当制备一套新的冷冻保存或冰冻干燥菌株时;
- 当每皿自发回变数不在正常范围时;
- 当对诱变剂丧失敏感性时;
- 使用主平板传代时;
- 投入使用前。

表1 菌株鉴定结果

菌株	基因型					自发回变菌落数 ^f
	组氨酸缺陷 ^a	脂多糖屏障缺失 ^b	R因子(抗氨基青霉素) ^c	抗四环素 ^d	uvrB修复缺陷 ^e	
TA97	+	+	+	-	+	90~180
TA98	+	+	+	-	+	30~50
TA100	+	+	+	-	+	120~200
TA102	+	+	+	+	-	240~320
TA1535	+	+	-	-	+	10~35
TA1537	+	+	-	-	+	3~28
WP2(pKM101)	+	+	+	-	+	7~23

^a “+”表示需要组氨酸。
^b “+”表示有抑制带。
^c “+”表示具有R因子。
^d “+”表示有四环素抗性。
^e “+”表示无修复能力。
^f 该数值为参考值,可在验证的基础上确定本实验室的规定数值范围。

6.3 菌株鉴定

6.3.1 增菌培养

在5 mL营养肉汤培养基中接种贮存菌培养物,于(37±2)℃条件下振荡(115 r/min~125 r/min)培养10 h~12 h。

6.3.2 组氨酸缺陷型的鉴定

6.3.2.1 加热融化底层培养基两瓶(一瓶不加组氨酸,一瓶加组氨酸),不加组氨酸者每100 mL底层培养基中加0.5 mmol D-生物素0.6 mL;加组氨酸者每100 mL底层培养基中加L-组氨酸1 mL(每100 mL中含0.404 3 g)和0.5 mmol D-生物素0.6 mL,冷却至50℃左右,各倒两个平皿。

6.3.2.2 接种:取有组氨酸和无组氨酸培养基平皿各一个,按菌株号顺序各取一白耳菌液划线(直线)接种在培养基表面,37℃培养48h。

6.3.2.3 结果判定:受试菌株在有组氨酸培养基平皿表面各长出一条菌膜,无组氨酸培养基平皿上除自发回复突变菌落外无菌膜,说明受试菌株确为组氨酸缺陷型。

6.3.3 脂多糖屏障缺陷的鉴定

6.3.3.1 接种:取菌液0.1mL移入平皿,迅速将加热融化的营养肉汤琼脂培养基(冷却至50℃左右)适量倒入平皿,混匀,平放凝固。将一片无菌滤纸片放入已凝固的培养基平皿中央,用移液器在滤纸片上滴加0.1%结晶紫溶液10μL,37℃培养24h,每个菌株做一个平皿。

6.3.3.2 结果判定:阳性者在纸片周围出现一个透明的抑制带,说明存在 rfa(深粗型)突变。TA97、TA98、TA100、TA1535、TA1537、TA102 和 WP2(pKM101)均有抑制带,野生型鼠伤寒沙门氏菌和野生型 WP2(pKM101)没有抑制带。

6.3.4 R 因子的鉴定

6.3.4.1 加热融化营养肉汤琼脂培养基,冷却至50℃左右,适量倒入平皿中,平放凝固,用移液器吸0.8%氨苄青霉素10μL,在凝固的培养基表面依中线涂成一条带,待氨苄青霉素溶液干后,用接种环与氨苄青霉素带相交划线接种要鉴定的菌株,并且接种一个不具有R因子的菌株作氨苄青霉素抗性的对照(一个平皿可同时鉴定几个菌株),37℃培养24h。

6.3.4.2 结果判定:菌株经过24h培养,在氨苄青霉素带的周围依然生长不受抑制,即有抗氨苄青霉素效应,证明带有R因子。

6.3.5 uvrB 修复缺陷型的鉴定

6.3.5.1 在营养肉汤琼脂培养基平皿表面用接种环划线接种需要的菌株。接种后的平皿一半用黑纸覆盖,在距15W紫外线灭菌灯33cm处照射8s,37℃培养24h。

6.3.5.2 结果判定:对紫外线敏感的菌株仅在没有照射过的部分生长。

6.3.6 四环素抗性的鉴定

6.3.6.1 用移液器各吸取5μL~10μL 0.8%的四环素溶液和0.8%的氨苄青霉素溶液,在营养肉汤琼脂培养基平皿表面依中线各涂成一条带,待四环素和氨苄青霉素溶液干后,用接种环于四环素和氨苄青霉素带相交划线接种TA102和一种有R因子的菌株(作为四环素抗性的对照),37℃培养24h。

6.3.6.2 结果判定:TA102菌株生长不受抑制,对照菌株有一段生长抑制区,表明TA102菌株有抗四环素效应。

6.3.7 自发回变菌落数的鉴定

6.3.7.1 每株菌准备底层培养基平皿2个,同时融化顶层培养基2管,每管2mL,在45℃水浴中保温。

6.3.7.2 在每管顶层培养基中,分别加入待鉴定的试验菌株的菌液0.1mL,各2管,轻轻摇匀,迅速将此试管的内容物倾入已固化的底层培养基平皿中,转动平皿,使顶层培养基均匀分布,平放固化,37℃培养48h计数菌落数,计算平均自发回变菌落数。

6.3.7.3 结果判定:每一菌株的平均自发回变菌落数应落在表1所列正常范围内。

6.4 菌株保存

鉴定合格的菌种应加入冷冻保护剂(例如光谱级二甲亚砜(DMSO)或甘油),保存在深低温

(如-80℃)或液氮中,或者冰冻干燥制成干粉,4℃保存。除液氮条件外,保存期一般不超过2年。主平板贮存在4℃,超过两月后丢弃,TA102主平板保存两周后应该丢弃。

7 试验前准备

7.1 器具灭菌

与试验和对照样品接触的所有器具应采用可靠方法灭菌,置压力蒸汽灭菌器内121℃30min,或置电热干燥箱内160℃2h。

7.2 试验环境要求

试验应在生物安全柜中进行。

8 样品制备

根据GB/T 16886.12的原则制备试验液。可采用生理盐水和/或其他适宜溶剂作为浸提介质。如怀疑试验样品可能对试验菌株产生抑制作用时,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。

9 对照样品制备

9.1 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。

9.2 阳性对照

每一试验菌株推荐的诱变剂和浓度见表2,适宜时也可采用其他已知诱变剂。

表2 推荐的诱变剂

试验菌株	S9 混合物	阳性对照	诱变剂浓度
TA97	+	对二甲基氨基苯重氮磺酸钠(敌克松) [CAS No. 140-56-7]	1.0 mg/mL,用无菌注射用水配制
	-		
TA98	+	对二甲基氨基苯重氮磺酸钠(敌克松) [CAS No. 140-56-7]	1.0 mg/mL,用无菌注射用水配制
	-		
TA100	+	2-氨基苄 [CAS No. 153-78-6]	0.1 mg/mL,用DMSO配制
	-	对二甲基氨基苯重氮磺酸钠(敌克松) [CAS No. 140-56-7]	1.0 mg/mL,用无菌注射用水配制
TA102	+	甲基磺酸甲酯 [CAS No. 66-27-3]	0.1 mg/mL,用无菌注射用水配制
	-		

表 2 (续)

试验菌株	S9 混合物	阳性对照	诱变剂浓度
WP2、WP2uvrA 和 WP2uvrA(pKM101)	+	叠氮化钠 [CAS No. 26628-22-8]	1.0 mg/mL, 用无菌注射用水配制
	-		
TA1535	+	2-氨基苄 [CAS No. 153-78-6]	0.1 mg/mL, 用 DMSO 配制
	-	叠氮化钠 [CAS No. 26628-22-8]	1.0 mg/mL, 用无菌注射用水配制
TA1537	+	对二甲氨基苯重碳酸钠(敌克松) [CAS No. 146-66-7]	1.0 mg/mL, 用无菌注射用水配制

注: 诱变剂可配制为 10× 贮备液, 分装在具塞玻璃试管内 2℃~8℃ 贮存, 临时时稀释至上述浓度。

10 试验菌液制备

取营养肉汤培养基 5 mL, 加入无菌小锥形瓶或无菌试管中, 将主平板或冷冻保存的菌株培养物接种于营养肉汤培养基内, 在 $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ 、 $(115 \text{ r/min} \sim 125 \text{ r/min})$ 振荡培养 10 h~12 h 至对数增长后期, 活菌数不少于 1×10^8 个/mL。培养瓶用黑纸包裹, 以防光线照射细菌。

11 预试验

11.1 对未知或怀疑可能对试验菌株有抑制作用的试验样品, 应进行预试验。

11.2 预试验步骤如下:

- 融化顶层培养基分装于无菌小试管, 每管 2 mL, 在 45°C 水浴中保温。在每管顶层培养基中, 分别加入按 10 制备的试验菌株新鲜菌液 0.1 mL, 各 2 管, 轻轻摇匀, 迅速将此试管的内容物倾入已固化的底层培养基平皿中, 转动平皿, 使顶层培养基均匀分布, 平放固化。取无菌滤纸圆片(直径为 6 mm)放在已固化的顶层培养基的中央位置上;
- 用移液器分别取 0.1 mL 试验材料浸提液点在纸片上;
- 同 a) 法操作, 阴性对照组加入 0.1 mL 浸提介质; 阳性对照加入 1.0 mg/mL 敌克松 0.1 mL;
- 37°C 培养 48 h~72 h 观察结果。

11.3 除阳性对照外, 试验样品和浸提介质平皿应无抑制区域。如对试验菌株有抑制作用, 应对试验样品或浸提液进行梯度稀释, 所选的剂量浓度范围宜包括细胞毒性从最大到小或无细胞毒性, 一般至少包括 5 个试验浓度梯度, 并以小或无细胞毒性浓度按平板掺入法进行试验。

注: 细胞毒性表现为, 回复突变的菌落数减少, 背景菌苔减少等。

12 平板掺入法

12.1 融化顶层培养基分装于无菌小试管, 每管 2 mL, 在 45°C 水浴中保温。

12.2 在保温的顶层培养基中依次加入每种试验菌株新鲜菌液 0.1 mL, 混匀; 试验样品组分别加 0.1 mL 试验材料浸提液, 活化组再加 10% S9 混合液 0.5 mL, 无活化组加 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液 0.5 mL, 每组 3 管, 再混匀, 迅速将每管溶液分别倾入底层培养基上, 转动平皿使顶层培养基均匀分布

在底层上,平放固化。

12.3 阴性对照组分别加入 0.1 mL 浸提介质,活化组再加 10% S9 混合液 0.5 mL,无活化组加入 0.2 mol/L 的磷酸盐缓冲液 0.5 mL。阳性对照组分别加表 2 列出的诱变剂 0.1 mL,活化组再加 10% S9 混合液 0.5 mL,无活化组加 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液 0.5 mL,其他步骤同 12.2。

12.4 全部平皿倒置于 37 °C 培养箱中培养 48 h~72 h 观察结果。

13 结果评价

13.1 计数并记录每一平皿的回变菌落数,并计算出 3 个平皿的平均值。

13.2 阴性对照组回变菌落数应在预期的范围内(见表 1),阳性对照组回变菌落数应至少为阴性对照的 3 倍,否则对不在范围内的菌株应重新试验。

13.3 在背景生长良好条件下,试验样品组回变菌落数至少为阴性对照组回变菌落数的两倍或两倍以上(即回变菌落数 $\geq 2 \times$ 阴性对照数)即为阳性反应。如回变菌落数的增加与剂量相关并具有统计学意义,或者至少在一个剂量水平出现可重复的并有统计学意义的阳性反应时,即可认为试验样品为阳性诱变剂。

14 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及其说明;
- c) 试验用菌株名称及特性鉴定;
- d) 试验条件和试验步骤;
- e) 试验结果;
- f) 结果评价;
- g) 结论。

附 录 A
(资料性附录)
S9 和 S9 混合液制备

A.1 大鼠肝 S9 液

A.1.1 选健康雄性成年 SD 或 Wistar 大白鼠, 体重 150 g 左右, 约 5~6 周龄。将多氯联苯(Aroclor 1254)溶于玉米油中, 浓度为 200 mg/mL, 按 500 mg/kg(体重)无菌操作一次腹腔注射。

注: 也可采用苯巴比妥和 β -萘黄酮联合诱导。

A.1.2 第 6 天用颈动脉放血法处死动物, 打开腹腔, 用 20 mL 新鲜冷至 4 °C 的 0.15 mol/L 氯化钾溶液进行肝门静脉灌注后, 小心分离并将肝脏完整取出。取出肝脏称重后, 用 0.15 mol/L 氯化钾溶液连续冲洗数次, 以便除去能抑制微粒体酶活性的血红蛋白。每克肝(湿重)加 0.1 mol/L 氯化钾溶液 3 mL, 连同烧杯移入冰浴中, 用灭菌剪刀剪碎肝脏, 在玻璃匀浆器(低于 4 000 r/min, 往复 1 min~2 min), 或组织匀浆器(20 000 r/min, 1 min)中制成肝匀浆。以上操作需注意无菌和局部冷环境(4 °C)。

A.1.3 将制成的肝匀浆在低温(0~4 °C)高速离心机上, 以 9 000 g 离心 10 min, 吸出上清液为肝 S9 液。

A.1.4 S9 制成后, 经无菌检查, 测定蛋白含量(Lowry 法), 每毫升蛋白含量宜不超过 40 mg, 并经间接致癌物(诱变剂)鉴定其生物活性合格后, 分装于无菌冷冻管或安瓿中, 每安瓿 2 mL 左右, 用液氮或干冰速冻后置 -80 °C 低温保存, 保存期不超过一年。

A.2 S9 混合液辅助因子

A.2.1 0.4 mol/L 氯化镁($MgCl_2$)溶液: 称取 3.8 g, 加蒸馏水稀释至 100 mL。灭菌或滤菌。4 °C 保存。

A.2.2 1.65 mol/L 氯化钾(KCl)溶液: 称取 12.3 g, 加蒸馏水稀释至 100 mL。灭菌或滤菌。4 °C 保存。

A.2.3 0.2 mol/L 磷酸盐缓冲液(pH 7.4), 每 500 mL 由以下成分组成:

磷酸氢二钠(Na_2HPO_4)(14.2 g / 500mL) 440 mL

磷酸二氢钠($NaH_2PO_4 \cdot H_2O$)(13.8 g / 500mL) 60 mL

调 pH 为 7.4, 0.103 MPa 20 min 灭菌或滤菌。4 °C 保存。

A.2.4 辅酶-II(氧化型)溶液: 准确称取辅酶-II, 用无菌蒸馏水溶解配制成 0.025 mol / L 溶液, 低温保存(-20 °C 以下)。

A.2.5 葡萄糖-6-磷酸钠盐溶液: 称取葡萄糖-6-磷酸钠盐, 用无菌蒸馏水溶解配制成 0.05 mol/L, 低温保存(-20 °C 以下)。

A.3 10% S9 混合液

每 10mL 由以下成分组成:

磷酸盐缓冲液(0.2 mol / L, pH 7.4) 6.0 mL

氯化钾溶液(1.65 mol / L) 0.2 mL

氯化镁溶液(0.4 mol / L) 0.2 mL

葡萄糖-6-磷酸盐溶液(0.05 mol / L) 1.0 mL

辅酶-II 溶液(0.025 mol / L) 1.6 mL

肝 S9 液 1.0 mL

临用时新鲜无菌配制, 混匀, 置冰浴中待用。

附 录 B
(资料性附录)
培养基和试剂制备

B.1 培养基与试剂**B.1.1 营养肉汤培养基**

牛肉膏	1.5 g
胰胨(或混合蛋白胨)	5.0 g
氯化钠	2.5 g
蒸馏水	500 mL

加热溶解,调节 pH 为 7.2,分装后 0.103 MPa 20 min 灭菌。4 ℃ 保存。

B.1.2 营养肉汤琼脂培养基

琼脂粉	1.5 g
营养肉汤培养基	100 mL

加热融化后调节 pH 为 7.2,0.103 MPa 20 min 灭菌。

B.1.3 底层培养基**B.1.3.1 磷酸盐贮备液**

磷酸氢钠铵($\text{NaNH}_4\text{HPO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$)	17.5 g
柠檬酸($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7 \cdot \text{H}_2\text{O}$)	10.0 g
磷酸氢二钾(K_2HPO_4)	50.0 g
硫酸镁($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	1.0 g

加蒸馏水至 100 mL,0.103 MPa 20 min 灭菌。4 ℃ 保存。

注:待其他试剂完全溶解后再将硫酸镁缓慢放入其中继续溶解,否则易析出沉淀。

B.1.3.2 40%葡萄糖溶液

将 40.0 g 葡萄糖加蒸馏水至 100 mL,0.055 MPa 20 min 灭菌。4 ℃ 保存。

B.1.3.3 1.5%琼脂培养基

琼脂粉	6.0 g
加蒸馏水至	400 mL

融化后 0.103 MPa 20 min 灭菌。

B.1.3.4 底层培养基制备

无菌操作在灭菌琼脂培养基中(400 mL)依次加入:

磷酸盐贮备液	8 mL
40%葡萄糖溶液	20 mL

充分混匀,待冷却至 80 ℃ 左右时注入培养皿,每皿(φ90 mm)约 25 mL,待培养基凝固后放入 37 ℃

恒温箱内,培养过夜以除去水分并检查有无污染。

B.1.4 顶层培养基

B.1.4.1 顶层琼脂

琼脂粉	3.0 g
氯化钠	2.5 g
加蒸馏水至	500 mL

B.1.4.2 0.5 mmol/L 组氨酸-0.5 mmol/L 生物素溶液(诱变试验用)

D-生物素(相对分子质量 244)	30.5 mg
L-组氨酸(相对分子质量 155)	19.5 mg
加蒸馏水至 250 mL。4 ℃ 保存。	

B.1.4.3 顶层培养基制备

加热融化顶层琼脂,每 100 mL 顶层琼脂中加 0.5 mmol / L 组氨酸—生物素溶液 10 mL。混匀,分装在 100 mL 锥形瓶中,0.103 MPa 20 min 灭菌。用时融化分装小试管,每管 2 mL,在 45 ℃ 水浴中保温。

B.1.5 特殊试剂和培养基

B.1.5.1 0.8% 氨苄青霉素溶液

称取氨苄青霉素 40 mg,用 0.02 mol/L 氢氧化钠溶液稀释至 5 mL。无菌配制,4 ℃ 保存。

B.1.5.2 0.1% 结晶紫溶液

称取 100 mg 结晶紫,溶于 100 mL 无菌水。4 ℃ 保存。

B.1.5.3 L-组氨酸溶液和 0.5 mmol / L D-生物素溶液(鉴定菌株用)

称取 L-组氨酸 0.404 3 g 和 D-生物素 12.2 mg,分别溶于 100 mL 蒸馏水。0.103 MPa 20 min 灭菌,4 ℃ 保存。

B.1.5.4 0.8% 四环素溶液(用于四环素抗性试验和氨苄青霉素-四环素平板):称取 40 mg 四环素,用 0.02 mol/L 盐酸缓冲液稀释至 5 mL,保存于 4 ℃ 冰箱。

B.1.5.5 氨苄青霉素平板和氨苄青霉素-四环素平板

每 1 000 mL 中由以下成分组成:

底层培养基	910 mL
磷酸盐贮液	20 mL
40% 葡萄糖溶液	50 mL
组氨酸水溶液(0.404 3 g / 100mL)	10 mL
0.5 mmol / L D-生物素溶液	6 mL
0.8% 氨苄青霉素溶液	3.15 mL
0.8% 四环素溶液	0.25 mL

以上成分均分别灭菌或无菌制备,冷却至大约 50 ℃,无菌条件下加入氨苄青霉素溶液和/或四环素溶液。

B. 1.5.6 组氨酸-生物素平板

每 1 000 mL 中由以下成分组成：

底层培养基	914 mL
磷酸盐贮备液	20 mL
40%葡萄糖溶液	50 mL
组氨酸水溶液(0.404 3 g/100 mL)	10 mL
0.5 mmol/L D-生物素溶液	6 mL

以上成分均分别灭菌或无菌制备。

B. 1.5.7 二甲基亚砜(DMSO)

光谱纯,0.103 MPa 20 min 灭菌。

参 考 文 献

- [1] YY/T 0127.10 口腔材料生物学评价 第2单元 口腔材料生物试验方法 鼠伤寒沙门氏杆菌回复突变试验(AMES 试验)
-

中华人民共和国医药
行 业 标 准
医疗器械遗传毒性试验
第 1 部分:细菌回复突变试验
YY/T 0870.1—2013

*

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(100013)
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 1 字数 24 千字
2014 年 2 月第一版 2014 年 2 月第一次印刷

*

书号: 155066·2-26360 定价 24.00 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



YY/T 0870.1—2013