

YY/T0870.6《医疗器械遗传毒性试验 第6部分：体外哺乳动物细胞微核试验》标准编制说明

一、工作简况

1. 任务来源

根据2018年医疗器械标准制修订工作安排，由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会归口，山东省医疗器械产品质量检验中心、深圳医疗器械检测中心负责制定YY 0870.6《医疗器械遗传毒性试验 第6部分：体外哺乳动物细胞微核试验》。

2. 标准体系

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TK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；

第6部分：体外哺乳动物细胞微核试验。

有关其他方面的遗传毒性试验将有其他部分的标准。

3. 工作过程

在接到标准制定任务后，标准起草工作组对OECD487-2016《体外哺乳动物细胞微核试验》进行认真研究，于2018年3月召开首次工作组会议，确定工作组讨论稿和标准验证方案。在分析验证结果和对标准内容进行充分讨论后，工作组于7月底完成了征求意见稿。

二、标准编制原则和确定标准主要内容的论据。

1. 制定本部分的主要参考文献

标准修订工作组按照GB/T 1.1—2009的规则，主要参考文献OECD487-2016《体外哺乳动物细胞微核试验》。

2. 试验原理

体外哺乳动物细胞微核试验用于检测在细胞暴露受试物期间或暴露后，受试物对经历过分裂的细胞诱发断裂和非整倍体作用的活性。本试验是在有或无代谢活化系统的情况下，将培养细胞与医疗器械/材料接触时再用细胞胞质分裂阻断剂（如细胞松弛素B）进行处理，通

通过对存在双核细胞的哺乳动物细胞的微核情况进行分析，评价试验样品潜在的致畸变性（见图1）。

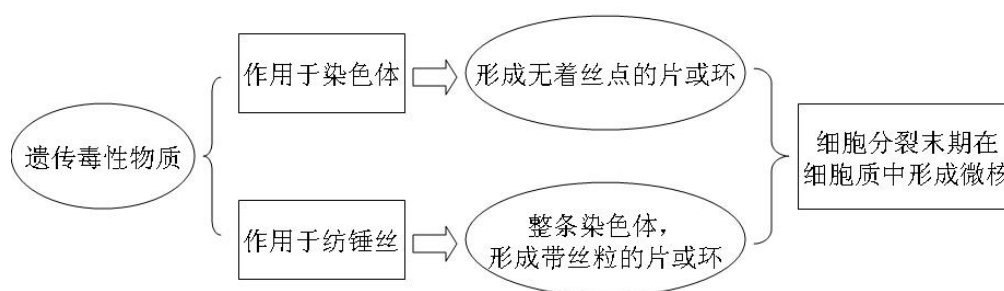


图1 微核形成的原理

3. 标准中相关内容的解释

1) 微核 (MN)

微核是真核生物细胞中的一种异常结构，与染色体损伤有关，是染色体或染色单体的无着丝点断片或纺锤丝受损而丢失的整个染色体，在细胞分裂后期遗留在细胞质中，末期之后，单独形成一个或几个规则的次核，包含在子细胞的胞质中，比主核小，故称微核。微核通常是因细胞经辐射或化学毒物的作用而产生。在细胞间期微核游离于主核之外、大小应在主核1/3到1/16（见图2）。

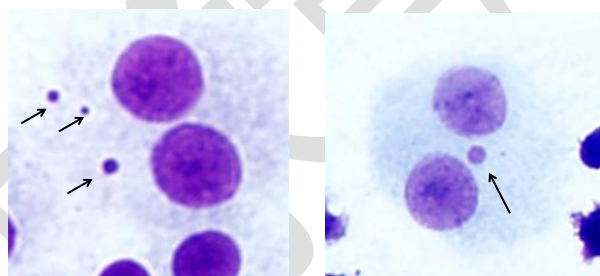


图2 微核示意图

2) 使用细胞松弛素 B (cytoB) 作为胞质分裂阻滞剂

微核试验最重要考虑因素之一是确保评价的细胞在处理期或处理后孵育期(如果使用的话)完成有丝分裂。因此，微核评价应使用在处理期间或处理后经历有丝分裂的细胞。肌动蛋白聚合抑制剂cytoB是最广泛用于阻断胞质分裂的试剂，因为它抑制肌动蛋白的组装，从而防止有丝分裂后子细胞的分离。经过1次分裂的细胞能形成双核细胞，经过两次分裂可形成3个核或4个核的细胞。所以检测微核时，只要统计双核细胞的微核率，可剔除未经分裂或分裂1次以上的细胞。使用cytoB时还可以同时检测测试样品对细胞增殖动力学的影响。cytoB的适宜浓度应由实验室确定(经验证，本部分标准推荐的cytoB的浓度为3 μg/mL-6 μg/mL)，以获得最佳的双核细胞数，并能产生较好的双核细胞率。

3) 细胞毒性

对怀疑有细胞毒性反应的试验样品需要进行预实验对细胞增殖进行测定,以确保在试验期间有足够的细胞有丝分裂,并确保在适当的细胞毒性水平上进行处理,以便更好地确定主实验中使用的浓度。预实验中的细胞毒性测定,不应取代在主实验中的细胞毒性的测量。

用cytoB处理培养中的单个核、双核和多核细胞的相对频率时,需要提供一种量化的对细胞增殖和细胞毒性或细胞生长活性的影响的精确方法,并在接触期间或接触后分裂的细胞显微镜下记分。本部分中使用胞质分裂阻断增殖指数(CBPI)或复制指数(RI)评价细胞毒性和细胞生长活性。其他细胞毒性指标(如细胞完整性、凋亡、坏死、中期计数、细胞周期)可提供有价值的信息评估,但不应用于替代CBPI或RI。

4) 计数细胞的选择

本试验选择计数并且统计分裂良好的双核细胞。对细胞中出现一个或多个的微核虽可以提供有价值的信息,但不做强行规定进行统计分析。不计数形状不规则的或两个核大小差别很大的双核细胞;也不要被分散不好的多核细胞混淆误认为是双核细胞。

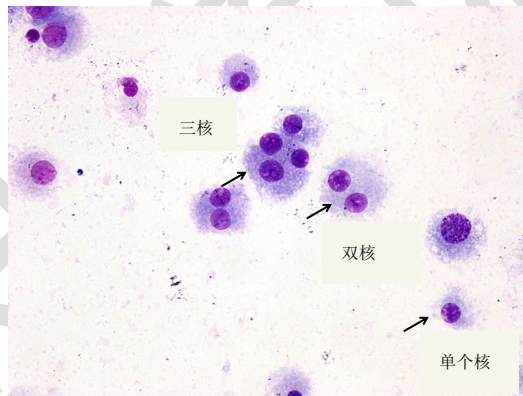


图3 单个核细胞、双核细胞、多核细胞示意图

5) 试验体系的要求

本部分标准根据医疗器械的特点,在遗传毒性试验数据的科学性和可靠性体现出对实验体系有较高的要求,即进行实验室能力确认试验(即实验室熟练度要求):对实验室的试验能力做了详细的规定,使实验室在进行常规测试之前建立足够的经验;要求建立阴性和阳性历史对照数据库,并对建库方法和修改进行了建议说明,以便对试验结果进行更准确的判定。

三、主要实验(或验证)的分析、综述报告、技术经济论证,预期的经济效果。

具体见验证报告和验证报告汇总报告。

四、采用国际标准和国外先进标准的程度,以及与国际、国外同类标准水平的对比情况,或与测试的国外样品、样机的有关数据对比情况。

本部分参照OECD 487-2016方法的基本原则，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。

五、与有关的现行法律、法规和强制性国家标准的关系。

本部分与有关的现行法律、法规和强制性国家标准无冲突和交叉。

六、重大分歧意见的处理经过和依据。

无。

七、行业标准作为强制性行业标准或推荐性行业标准的建议。

该标准为方法标准，供使用者选择参考，建议作为推荐性行业标准。

八、贯彻行业标准的要求和措施建议（包括组织措施、技术措施、过渡办法等内容）

标准发布后，在济南中心将在标准实施日期前采用在网页上开辟该标准宣贯专栏，在中心《标准化简报》上公布标准宣贯资料、召开标准宣贯会等形式对该标准的技术内容进行宣贯。

九、废止现行有关标准的建议。

无。

十、其他应予说明的事项。

无。

标准起草工作组

2018年7月27日