

中华人民共和国医药行业标准

YY/T XXXX.1—XXXX

医疗器械致癌性试验 第1部分：体外细胞
转化试验

Test for carcinogenicity of medical devices—Part 1:
In vitro cell transformation assay

征求意见稿

(点击此处添加与国际标准一致性程度的标识)

2025.06

在提交反馈意见时，请将您知道的相关专利连同支持性文件一并附上。

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件是YY/T XXXX《医疗器械致癌性试验》的第1部分。YY/T XXXX已经发布了以下部分：

——第1部分：体外细胞转化试验。

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专利的责任。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会（SAC/TC248）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

征求意见稿

引 言

GB/T 16886.1中提到关于新材料的致癌性评价的必要性。随着新材料的层出不穷，目前对新材料的致癌性评估有迫切的需求。为保证医疗器械的安全使用，减少其对人体潜在的危害性，有效的致癌性检测体系是非常重要的。

体外细胞转化试验用于体内致癌试验前的医疗器械/材料致癌物筛查和致癌机制的探讨。作为体外遗传毒性试验的补充，有助于评估遗传毒性和/或非遗传毒性化合物的致癌性风险，从而减少不必要的体内致癌试验，降低实验动物的使用量。体外细胞转化是一种用于致癌性评估的试验方法，其结果可作为致癌性证据权重的一部分。此外，医疗器械/材料的致癌性评价策略，还包括物理特性、化学表征、遗传毒性数据、毒代动力学、可获得的证据权重和作用方式等信息的综合评定。

YY/T XXXX旨在建立医疗器械致癌性试验的具体试验方法，拟由2个部分构成。

——第1部分：体外细胞转化试验。目的在于给出医疗器械/材料体外细胞转化试验的详细试验方法。

——第2部分：体内转基因动物模型小鼠致癌试验。目的在于给出医疗器械/材料转基因动物模型小鼠致癌试验的详细试验方法。

医疗器械致癌性试验 第1部分：体外细胞转化试验

1 范围

本文件规定了医疗器械/材料体外哺乳动物细胞转化试验方法。

本文件适用于通过体外哺乳动物细胞转化试验筛选医疗器械/材料是否具有潜在的致癌性作用。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；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 16886.3 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

3 术语和定义

GB/T 16886.3界定的术语和定义适用于本文件。

4 试验原理

体外细胞转化试验（CTA）采用模拟体内细胞恶性转化的体外检测系统，将哺乳动物细胞与潜在致癌物接触，对正常细胞发生恶性转化的改变进行检测，包括能够无限生长（永生化）、恶性细胞形态变化（如细胞形态从圆形变为梭形或纺锤形）、生长模式的变化（如培养细胞发生纵横交错和多层生长）、非整倍体和遗传不稳定性、不依赖支持物的生长（如培养细胞发生迁移和侵袭）以及体内成瘤等。CTA通过模拟体内致癌作用的启动和促癌阶段，检测已知具有起始活性（肿瘤引发剂，其中大多数是遗传毒性致癌物）和/或促癌活性（肿瘤促进剂，其中大多数是非遗传毒性致癌物）的致癌物。

5 主要设备

生物安全柜、细胞培养箱、倒置显微镜、离心机、移液器、酶标仪或孔板光度计等。

6 试剂及试剂配制

二甲基亚砜（DMSO）、3-甲基胆蒎、佛波醇 12-十四酸酯 13-乙酸酯、5%吉姆萨溶液、磷酸盐缓冲液（PBS，不含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} ）、胎牛血清、MEM 培养基、DMEM/F12 培养基（体积比 1:1）、DMEM 培养基、固定液（如甲醇或 10%的福尔马林固定液）、洗涤液（如 1×PBS）、0.1%结晶紫溶液

结晶紫染料提取液：蒸馏水：冰乙酸（分析纯）以体积比 9:1 混合，现配现用。

M10F培养基：加入10%胎牛血清的MEM培养基。

DF5F 培养基：加入 5%胎牛血清的 DMEM/F12 培养基。

DF2I2F 培养基：加入 2%胎牛血清的 DMEM/F12 培养基，加入牛胰岛素达到终浓度为 2 ug/mL。

7 细胞系

推荐使用 Bhas42 细胞、小鼠胚胎成纤维细胞 Balb/c 3T3（亚克隆为 A31-1-1），宜采用传代次数在 15 代以内的细胞，以降低细胞自发突变。试验时，应选用合适的培养液并设置合适的培养条件（培养温度 37℃，5%CO₂，>90%湿度）来维持所培养细胞的生长。此外，亦可选择其他经验证的细胞。

8 样品制备

宜根据 GB/T 16886.12 的原则制备试验液。除非该试验样品能溶于与试验系统相容的介质，否则，应说明所选浸提介质的适宜性，即能使医疗器械/材料中致癌物成分被最大程度的浸提，并确保在成品使用中可能释放出的任何组分都会释放到浸提介质中。浸提时应使用极性和非极性两种浸提介质（如果以含血清的培养基为浸提介质制备的样品浸提液，可直接用于试验）。浸提过程为模拟医疗器械/材料加严接触情况，但不能引起其降解。宜考虑试验系统相容性，并排除浸提介质自身的致癌性。

浸提液应在制备后 24 h 内使用，以防止材料/成分吸附到容器上或成分发生其他变化。除非提供理由，否则不应调整浸出物 pH 值。浸提液通常不应采用通过过滤、离心或其他方法来去除悬浮粒子，但必要时，可说明并给出理由。

9 对照品制备

9.1 阴性对照

试验样品的浸提介质/溶剂，处理同试验组。

9.2 阳性对照

阳性对照用以证明实验室在所用测试条件下引起体外细胞转化的能力。应选择适宜的阳性对照剂量以得到阳性结果，阳性对照物举例见表 1。如有充分理由时也可采用其他适宜的阳性对照物。

表1 阳性对照物举例

试验类型和试验阶段		化学物	化学物质登记号
Bhas 42 体外细胞转化试验	启动试验	3-甲基胆蒎（MCA） ^a	56-49-5
	促癌试验	佛波醇 12-十四酸酯 13-乙酸酯（TPA） ^b	16561-29-8
BABL/3T3 体外细胞转化试验		3-甲基胆蒎（MCA） ^c	56-49-5
^a 将 MCA 溶解于 DMSO 中，推荐配制浓度为 8 mg/mL 的储备液，使用前以 DF5F 培养基稀释至终浓度为 1 μg/mL，溶液现用现配。			
^b 将 TPA 溶解于 DMSO 中，推荐配制浓度为 5 mg/mL 的储备液，使用前以 DF5F 培养基稀释至终浓度为 50 ng/mL，溶液现用现配。			
^c 将 MCA 溶解于 DMSO 中，推荐配制浓度为 8 mg/mL 的储备液，使用前以 DF5F 培养基稀释至终浓度为 4 μg/mL 用于 Bhas 42 细胞试验（或以 M10F 培养基稀释至终浓度为 4 μg/mL 用于 BABL/3T3 细胞试验），溶液现用现配。			

10 Bhas 42 体外细胞转化试验

10.1 试验步骤

10.1.1 总则

贮存细胞解冻后，细胞在用于试验之前用M10F培养基传代2次～3次。

Bhas 42体外细胞转化试验包括启动试验和促癌试验两部分，分别检测医疗器械/材料的引发和促进肿瘤的潜能。这两部分都包含两个阶段，首先进行生长试验，通过测定试验样品的细胞毒性，用于确定适宜的试验样品浓度范围；其次进行转化试验，对给定浓度的试验样品引起致癌性转化的细胞进行检测。生长试验同步设置空白对照，空白对照孔中只有DF5F培养基而不含细胞。

10.1.2 启动试验

10.1.2.1 启动—生长试验

细胞接种：第0 d，细胞汇合度不超过70%的情况下，收集生长状态良好的Bhas 42细胞，用DF5F培养基制备细胞悬液。在96孔细胞培养板孔中加入200 μL细胞悬液，每孔含有200个细胞；如采用6孔细胞培养板，则每孔加入4000个细胞，体积为2 mL。随后将细胞置于含5%CO₂的37℃细胞培养箱内，培养24 h。

加样处理：第1 d，弃去96孔细胞培养板内液体，分别加入样品试验液、阴性对照液、阳性对照液，每孔200 μL，每组设置8个重复孔；如采用6孔细胞培养板，则每孔加入2 mL，每组设置3个重复孔。在不含细胞的培养孔加入空白对照液。置于细胞培养箱中培养72 h。

细胞换液：第4 d，弃去细胞培养板内液体，更换为新鲜DF5F培养基。置于细胞培养箱中培养72 h。

细胞固定、染色：第7 d，弃去细胞培养板内液体，用固定液固定细胞30 min，1×PBS充分冲洗并弃尽培养孔内的液体。用0.1%结晶紫溶液染色约15 min，用1×PBS充分冲洗并彻底弃尽培养孔内的液体。

结果测定：在96孔细胞培养板孔中加入结晶紫染料提取液，通过使用0.1 mL/孔的提取液，将结晶紫从孔中提取出来；如采用6孔培养板，则每孔加入2 mL的结晶紫染料提取液。用酶标仪测定540 nm~570 nm波长下吸光度（OD）。按公式（1）计算细胞相对存活率：

$$RCG = \frac{(OD_{At} - OD_{Ab})}{(OD_{Ac} - OD_{Ab})} \times 100\% \dots\dots\dots \text{公式（1）}$$

式中：

RCG——细胞相对存活率；

OD_{At}——试验组或阳性对照组的吸光度；

OD_{Ab}——空白对照组的吸光度；

OD_{Ac}——阴性对照组的吸光度。

10.1.2.2 试验浓度选择

用于转化试验的试验液浓度，应根据10.1.2.1细胞生长试验的结果来确定。试验浓度覆盖从几乎无毒性到最高可接受毒性水平的范围，应设置至少5个试验组浓度。试验液浓度包括：

- a) 至少一个试验液的浓度，其细胞相对存活率为80%～120%；
- b) 位于非毒性水平和50%抑制浓度（IC₅₀）之间，即相对细胞存活率为50%～80%的两个试验液浓度；
- c) 位于IC₅₀和90%抑制浓度（IC₉₀）之间，即细胞相对存活率在10%～50%的两个试验液浓度。如未得出IC₅₀，应至少设置3个试验组浓度（可采用倍比稀释）。

10.1.2.3 启动—转化试验

细胞接种：第0 d，细胞汇合度不超过70%的情况下，收集生长状态良好的Bhas 42细胞，用DF5F培养基制备细胞悬液。将此悬液加入96孔细胞培养板中，200 μL/孔，确保每孔含有约200个细胞。设置试验样品的不同浓度组、阴性对照组、阳性对照组，每组分别接种一块培养板；如采用6孔细胞培养板，则每孔加入4000个细胞，2 mL/孔，每个处理组设置6个复孔。随后，将细胞置于含有5%CO₂的37℃ 细胞培养箱中，继续培养24 h。

加样处理：第1 d，弃去96孔细胞培养板内液体，分别加入样品试验液、阴性对照液、阳性对照液，每孔200μL；如采用6孔细胞培养板，则每孔加入2 mL。

细胞换液：分别于第4 d至第17 d，弃去细胞培养板内液体，每周更换2次新鲜DF5F培养基。

细胞固定、染色：第21 d，弃去细胞培养板内液体，用固定液固定细胞 30 min，1×PBS 充分冲洗并弃尽培养孔内的液体，并用 5% Giemsa 溶液染色 15 min，1×PBS 充分冲洗并彻底弃尽培养孔内的液体。

结果观察：用显微镜对细胞形态和转化细胞灶进行观察，转化细胞灶应具有以下形态特征：

- a) 超过100个细胞；
- b) 纺锤形细胞，细胞形态与接触抑制的单层细胞不同；
- c) 深度嗜碱染色；
- d) 转化灶边缘细胞的随机定位（交错）；
- e) 密集且呈多层排列的细胞（堆积）；
- f) 侵袭性生长进入周围的接触抑制细胞单层。

结果计算：在6孔细胞培养板试验中，分别记录各组每个孔中的转化细胞灶数。在96孔细胞培养板试验中，分别记录各组出现转化细胞灶的孔数与观察到的总孔数，即每个具有一个细胞灶的孔计为1个，每个具有两个或更多细胞灶的孔也计为1个。按公式（2）分别计算试验组、阴性对照组、阳性对照组的转化频率。

$$TF = \frac{n}{N} \dots\dots\dots \text{公式（2）}$$

式中：

TF——转化频率；

n——含有转化灶的孔数；

N——总孔数。

10.1.3 促癌试验

10.1.3.1 促癌—生长试验

细胞接种：第0 d，细胞汇合度不超过70%的情况下，收集生长状态良好的Bhas 42细胞，用DF5F培养基制备细胞悬液。在96孔细胞培养板中加入200 μL细胞悬液，每孔含有400个细胞；如采用6孔细胞培养板，则每孔加入14000个细胞，体积为2 mL。将细胞置于含5%CO₂的37℃细胞培养箱内，培养96 h。空白对照孔中只有培养基而不含细胞。

加样处理：第4 d，弃去96孔细胞培养板内液体，分别加入样品试验液、阴性对照液、阳性对照液、空白对照液，每孔200 μL，每组设置8个重复孔；如采用6孔细胞培养板，则每孔加入2 mL，每组设置3个重复孔。置于细胞培养箱中培养72 h。

细胞固定、染色与结果测定：第7 d，弃去96孔细胞培养板内液体，重复10.1.2.1中“细胞固定、染色”“结果测定”操作步骤，并按公式（1）计算促癌—生长试验的细胞相对存活率，用以确认所选择的试验液浓度是否符合10.1.2.2的浓度要求。

当启动—生长试验未得出非毒性水平（即细胞生长率超过80%）时，无需开展促癌—细胞生长试验。

10.1.3.2 试验浓度选择

同10.1.2.2试验浓度选择。

10.1.3.3 促癌—转化试验

细胞接种：第0 d，细胞汇合度不超过70%的情况下，收集生长状态良好的Bhas 42细胞，用DF5F培养基制备细胞悬液。将此悬液加入96孔细胞培养板中，200 μ L/孔，每孔含有400个细胞；如采用6孔细胞培养板，则每孔加入14000个细胞，2 mL/孔。将细胞置于含5%CO₂的37℃ 细胞培养箱内培养96 h。

加样处理：细胞从第4 d~第14 d接触试验样品或对照品，即分别于第4 d、第7 d、第10 d，弃去细胞培养板内液体，分别加入样品试验液、阴性对照液、阳性对照液。

细胞换液：分别在第14 d、第17 d，弃去细胞培养板内液体，更换为新鲜的DF5F培养基。

细胞固定、染色与结果观察：重复10.1.2.3中“细胞固定、染色”“结果观察”操作，显微镜下观察细胞形态，计数转化灶数目，并按10.1.2.3分别计算各组转化频率。

10.2 数据处理

在96孔培养板方法中，针对试验样品处理后出现具有转化细胞灶的孔的比例增加，使用带有Bonferroni校正的卡方检验进行统计分析（ $P<0.05$ ，单尾）。对于多重性，考虑满足测定接受标准的浓度数（至少4个）。对于阳性对照，使用单侧卡方检验评估统计显著性（ $P<0.05$ ，单尾）。

在6孔培养板方法中，针对试验样品引起的转化细胞灶数增加，使用单侧Dunnett检验进行多重比较的统计分析（ $P<0.05$ ）。对于阳性对照，根据同方差性的F检验结果，使用单侧t检验或Aspin-Welch检验评估统计显著性（ $P<0.05$ ）。

10.3 试验质量检查

同时满足以下要求，即认为试验系统有效：

a) 阴性对照组：

——96孔板试验，启动—转化试验中每个培养板（自发）转化灶的孔数应不高于15个，促癌—转化试验中每个培养板（自发）转化灶的孔数应不高于20个。

——6孔板试验，启动—转化试验中每孔（自发）转化灶数应不高于10个，促癌—转化试验中每孔（自发）转化灶数应不高于12个。

启动—转化试验和促癌—转化试验中自发转化的可接受标准不同，原因在于促癌—转化试验中所用的细胞接种密度较高，增加了自发转化的频率。

b) 阳性对照组：

——与阴性对照相比，阳性对照组的转化频率（或转化灶数量）应显著性增加且具有生物学相关性。

注：生物学相关性包括两种，一是通过促进细胞生长而诱导细胞发生致癌性转化的医疗器械/材料；二是通过抑制细胞生长而诱导细胞发生致癌性转化的医疗器械/材料。

10.4 结果评价

应按以下标准，对启动—转化试验和促癌—转化试验的结果分别进行评价：

——与阴性对照组相比，当两个或两个以上的连续试验浓度能够引起转化频率（或转化灶数量）显著性增加，并且至少有一个浓度超过历史阴性对照数据的分布范围（例如 95%置信区间）时，结果判定为阳性；

——与阴性对照组相比，当仅有一个试验浓度的转化频率（或转化灶数量）显著性增加且超过历史阴性对照数据的分布范围（例如 95%置信区间）时，如进一步统计分析提示差异具有剂量相关性，结果判定为阳性；

——与阴性对照组相比，当各浓度试验组的转化频率（或转化灶数量）均未显示出显著性增加时，结果判定为阴性；

——如果仅在一个浓度下出现转化频率（或转化灶数量）显著性增加且未观察到浓度依赖性，则试验结果被视为可疑；应同时采用较低的试验浓度（以排除细胞接触抑制）并考虑更宽或更窄的浓度范围，重复启动转化试验和/或促癌—转化试验，来排除可疑的试验结果。

根据上述标准，当启动—转化试验和/或促癌—转化试验的结果为阳性时，认为医疗器械/材料在该测试系统中具有潜在致癌性。当启动—转化试验和促癌—转化试验的结果均为阴性时，表明医疗器械/材料在该测试系统中不具有潜在致癌性。

11 BALB/c 3T3 体外细胞转化

11.1 试验步骤

11.1.1 总则

BALB/c 3T3体外细胞转化试验包括生长试验和转化试验两个阶段，通过测定试验样品的细胞毒性，用于确定适宜的试验样品浓度范围进行转化试验。

贮存细胞解冻后，细胞在用于试验之前用M10F培养基传代2次~3次。

11.1.2 生长试验

通过克隆形成效率法或结晶紫法测定试验样品的细胞毒性，用于确定后续细胞转化试验的试验样品浓度范围。

11.1.2.1 克隆形成效率法

细胞接种：第 0 d，细胞汇合度不超过 70%的情况下，收集生长状态良好的 BALB/c 3T3 细胞，用 M10F 培养液制备细胞悬液。在直径为 60 mm 的细胞培养皿中加入细胞悬液，4 mL/皿，每皿含有 200 个细胞；如采用底面积为 25 cm² 细胞培养瓶，则每瓶加入 200 个细胞，4 mL/瓶。将细胞置于含 5%CO₂ 的 37℃细胞培养箱内培养 24 h。

加样处理：第 1 d，弃去培养液，分别加入样品试验液，阴性对照液、阳性对照液，4 mL/皿（或瓶），每组设置 4 个重复皿（或瓶）。

细胞换液：在第 4d 和第 7d，弃去细胞培养皿（或瓶）内液体，分别更换为新鲜 M10F 培养基。

细胞固定、染色：第 9d，固定液固定细胞并用 5%Giemsa 溶液染色。1×PBS 充分冲洗并彻底弃尽培养孔内的液体。

结果计算：显微镜下计数细胞克隆数目（细胞克隆是指 50 个细胞以上或直径超过约 2 mm 的细胞灶）并按公式（3）计算平板接种效率（PE），按公式（4）计算相对克隆形成效率（CFE）。

$$PE = \frac{C}{200} \times 100\% \dots\dots\dots \text{公式（3）}$$

式中：

PE——平板接种效率；

C——阴性对照组克隆数；

200——接种在细胞培养皿（或瓶）中的细胞总数。

$$CFE = \frac{S}{C} \times 100\% \dots \dots \dots \text{公式（4）}$$

式中：

CFE——相对克隆形成率；

S——试验组克隆数目；

C——阴性对照组克隆数。

11.1.2.2 结晶紫法

细胞接种：第 0 d，细胞汇合度不超过 70%的情况下，收集生长状态良好的 BALB/c 3T3 细胞，用 M10F 培养液制备细胞悬液。将细胞以每孔 3×10^3 个细胞的密度接种在 6 孔板中，每孔加入 1.5 mL 的 M10F 培养基，置于含 5%CO₂ 的 37℃ 细胞培养箱内培养。结晶紫试验同步设置空白对照孔（为不含细胞的培养基）。

加样处理：第 1 d，弃去培养液，分别加入样品试验液，阴性对照液、阳性对照液，1.5 mL/孔。每组设置 3 个重复孔。将细胞置于含 5%CO₂ 的 37℃ 细胞培养箱内培养 72 h。在不含细胞的培养孔加入空白对照液。

细胞换液：第 4 d，弃去细胞培养孔内液体，更换为新鲜的 M10F 培养基。

细胞固定、染色：第 7 d，去除培养液，固定液固定 30 min，用 1×PBS 充分冲洗并弃尽培养孔内的液体，然后用 0.1% 结晶紫溶液染色 15 min。用 1×PBS 充分冲洗并彻底弃尽培养孔内的液体。

结果计算：每孔中加入 2 mL 结晶紫染料提取液，振荡混匀 10 min，用酶标仪测定 540nm~570nm 波长下吸光度（OD），按公式（1）计算细胞相对存活率。

11.1.3 试验浓度选择

用于转化试验的试验液浓度，应根据 11.1.2 细胞生长试验的结果来确定。

采用克隆形成效率法开展细胞生长试验时，在转化试验中设置至少 2 个试验组浓度，试验液的浓度应包括：

- a) 位于非毒性水平和 IC₅₀ 之间，即相对克隆形成率在 50%~80% 的一个试验液浓度；
- b) 位于 IC₅₀ 和 IC₉₀ 之间，即相对克隆形成率在 10%~50% 的一个试验液浓度。

采用结晶紫法开展细胞生长试验时，在转化试验中设置至少 5 个试验组浓度，试验液的浓度应包括：

- a) 至少一个试验液的浓度，其细胞生长率为 80%~120%；
- b) 位于非毒性水平和 IC₅₀ 之间，即相对细胞存活率为 50%~80% 的两种试验液浓度；
- c) 位于 IC₅₀ 和 IC₉₀ 之间，即相对细胞存活率在 10%~50% 的两个试验液浓度。

如未得出 IC₅₀，应至少设置 3 个试验组浓度，可采用倍比稀释。

11.1.4 转化试验

细胞接种：第 0 d，细胞汇合度不超过 70%的情况下，收集生长状态良好的 BALB/c 3T3 细胞。用 M10F 培养液制备细胞悬液接种于直径为 60 mm 的细胞培养皿中，每皿加入 8×10^3 个细胞，4 mL/皿。如采用底面积为 25cm² 细胞培养瓶，则每瓶加入 8×10^3 个细胞，4 mL/瓶。置于 5%CO₂，37℃ 细胞培养箱内培养 24 h。

加样处理：第 1 d，弃去培养液，分别加入样品试验液、阴性对照液及阳性对照液，4 mL/皿（或瓶），

每组设置 10 个重复皿（或瓶）。

细胞换液：第 4 d，弃去细胞培养皿内液体，更换为新鲜 M10F 培养基。第 5 d 至第 24 d 或第 25 d，弃去细胞培养皿（或瓶）内液体，每周更换 2 次新鲜 DF2I2F 培养基。

细胞固定、染色：第 31 d 或第 32 d，固定液固定细胞并用 5%Giemsa 溶液染色。

结果观察：显微镜下观察细胞形态学并计数Ⅲ型转化灶数目。

注：Ⅲ型转化灶是恶性转化的细胞密集多层（堆积），转化灶边缘细胞随机定向和侵袭性生长（呈十字形），具有核嗜碱深染的特性。

11.2 数据处理

分别采用单因素方差分析相对克隆形成效率与Ⅲ型转化灶数目。与阴性对照组相比， $p < 0.01$ 表示有统计学差异。

11.3 试验质量检查

同时满足以下要求，即认为试验系统有效：

- a) 生长试验中，阴性对照组的平板接种效率应均不小于 30%；
- b) 转化试验中，阴性对照组Ⅲ型转化灶总数应不超过 5 个；
- c) 转化试验中，阳性对照组Ⅲ型转化灶数应在 10 个/皿以上，且与阴性对照组相比应有差异。

11.4 结果评价

与阴性对照组相比，试验组的Ⅲ型转化灶数目显著性增加（ $p < 0.01$ ），认为试验样品反应为阳性；反之则为阴性反应。

12 试验报告

试验报告中应包含下列信息：

- a) 试验样品描述：
 - 名称、规格型号和批号；
- b) 细胞：
 - 细胞的类型和来源；
 - 细胞培养的代数（适用时）；
 - 细胞培养方法；
- c) 试剂：
 - 介质、血清和抗生素（如添加）的批号和公司名称；
- d) 试验条件：
 - 试验样品浓度选择依据和测试的重复数；
 - 阴性、阳性和其他对照品；
 - CO₂ 体积分数，湿度水平和培养温度；
 - 转化细胞灶的定义，阳性、阴性或可疑结果的评价标准；
- e) 试验结果：
 - 各试验组转化灶数目；
 - 各试验组有转化灶的孔数（96 孔板法）；
 - 统计分析方法， p 值；
 - 结果解释和讨论；

——结论。

征求意见稿

参考文献

- [1] OECD 137 In vitro BALB/c 3T3 Cell Transformation Assay (BALB/c 3T3 CTA).
 - [2] OECD 156 Bhas 42 Cell Transformation Assay in 6- and 96-well plates.
-

征求意见稿