МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СОВЕТ ПО СТАНДАРТИЗАЦИИ, МЕТРОЛОГИИ И СЕРТИФИКАЦИИ
(МГС)
INTERSTATE COUNCIL FOR STANDARDIZATION, METROLOGY AND CERTIFICATION
(ISC)

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 10993-12— 2023

Изделия медицинские

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Часть 12

Отбор и подготовка образцов для проведения исследований

(ISO 10993-12:2021, Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials, IDT)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2023

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и общие правила проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены ГОСТ 1.0 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2 «Межгосударственная система стандартизации. Стандарты межгосударственные, правила и рекомендации по межгосударственной стандартизации. Правила разработки, принятия, обновления и отмены»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Автономной некоммерческой организацией «Институт медико-биологических исследований и технологий» (АНО «ИМБИИТ») на основе собственного перевода на русский язык англоязычной версии стандарта, указанного в пункте 5

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 31 августа 2023 г. № 164-П)

За принятие проголосовали:

Краткое наименование страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Код страны по МК (ИСО 3166) 004—97	Сокращенное наименование национального органа по стандартизации
Армения	AM	ЗАО «Национальный орган по стандартизации и метрологии» Республики Армения
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Таджикистан	TJ	Таджикстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 10 октября 2023 г. № 1091-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 10993-12—2023 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июня 2024 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 10993-12:2021 «Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 12. Подготовка проб и стандартные образцы» («Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials», IDT).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для приведения в соответствие с ГОСТ 1.5—2001 (подраздел 3.6)

6 ВЗАМЕН ГОСТ ISO 10993-12—2015

Информация о введении в действие (прекращении действия) настоящего стандарта и изменений к нему на территории указанных выше государств публикуется в указателях национальных стандартов, издаваемых в этих государствах, а также в сети Интернет на сайтах соответствующих национальных органов по стандартизации.

В случае пересмотра, изменения или отмены настоящего стандарта соответствующая информация будет опубликована на официальном интернет-сайте Межгосударственного совета по стандартизации, метрологии и сертификации в каталоге «Межгосударственные стандарты»

© ISO, 2021
© Оформление. ФГБУ «Институт стандартизации», 2023



В Российской Федерации настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 1
3 Термины и определения 1
4 Общие положения 3
5 Стандартные образцы 4
5.1 Общие положения 4
5.2 Сертификация стандартных образцов для оценки биологического действия 4
6 Использование стандартного образца в качестве экспериментального контроля 4
7 Требования к исследуемым образцам 5
8 Подготовка исследуемых и стандартных образцов 5
9 Отбор репрезентативных образцов медицинского изделия 5
10 Приготовление экстрактов из исследуемых образцов 6
10.1 Общие положения 6
10.2 Емкости для экстракции 6
10.3 Условия, параметры и методы экстракции 6
10.4 Условия, параметры и методы экстракции материалов, полимеризующихся *in situ* 10
11 Сведения, включаемые в отчет об исследовании 11
Приложение А (справочное) Рекомендации по выбору экспериментальных контролей 12
Приложение В (справочное) Дополнительные рекомендации по отбору и подготовке исследуемых образцов 14
Приложение С (справочное) Дополнительные рекомендации по приготовлению экстрактов из исследуемых образцов 15
Приложение D (справочное) Дополнительные рекомендации по проведению исчерпывающей экстракции образцов полимерных материалов для оценки биологического действия медицинских изделий 17
Библиография 19

Введение

ISO (Международная организация по стандартизации) является федерацией национальных органов по стандартизации (органов — членов ISO). Работу по подготовке международных стандартов проводят через технические комитеты ISO. Каждая организация-член, заинтересованная в области деятельности, для которой создан технический комитет, имеет право быть представленной в данном комитете. Международные правительственные и неправительственные организации также принимают участие в работе ISO. ISO тесно сотрудничает с Международной электротехнической комиссией (IEC) по вопросам стандартизации электротехнической продукции.

Процедуры, примененные при разработке настоящего стандарта, а также процедуры, предназначенные для его дальнейшей поддержки, приведены в Директивах ISO/IEC, часть 1. Следует отметить необходимость различных критериев утверждения для различных видов документов ISO. Настоящий стандарт подготовлен в соответствии с редакционными правилами Директив ISO/IEC, часть 2 (gost.e-ecolog.ru org/directives).

Следует учитывать, что элементы настоящего стандарта могут быть предметом патентных прав. ISO не несет ответственности за идентификацию таких прав частично или полностью. Сведения о патентных правах, идентифицированных при разработке настоящего стандарта, указаны во введении и/или в перечне полученных ISO деклараций о патентном праве (см. gost.e-ecolog.ru).

Любая информация о торговой марке продукции, указанной в настоящем стандарте, является информацией, приведенной для удобства пользования, и не является рекламой.

Для разъяснения добровольного характера стандартов, значений конкретных терминов ISO и понятий, связанных с оценкой соответствия, а также информации о приверженности ISO принципам ВТО по техническим барьерам в торговле (TBT), см. следующий URL: gost.e-ecolog.ru .

Международный стандарт разработан Техническим комитетом ISO/TC 194 «Биологическая и клиническая оценка медицинских изделий» в сотрудничестве с Техническим комитетом Европейского комитета по стандартизации (CEN) CEN/TC 206 «Биологическая и клиническая оценка медицинских изделий» в соответствии с Соглашением о техническом сотрудничестве между ISO и CEN (Венское соглашение).

Пятое издание отменяет и заменяет четвертое издание ISO 10993-12:2012, в которое внесены следующие изменения:

- в область применения включена информация о том, что настоящий стандарт распространяется на экстракцию, применяемую только для оценки биологического действия медицинских изделий;
- согласование терминов и определений с терминами и определениями, приведенными в ISO 10993-18;
- дополнены таблица 1, 10.3.1 и приложение D в части условий и параметров исчерпывающей экстракции.

Перечень стандартов серии ISO 10993 приведен на официальном сайте ISO.

Замечания и предложения к настоящему стандарту следует направлять в национальные органы по стандартизации пользователей. Перечень национальных органов по стандартизации приведен по адресу gost.e-ecolog.ru .

Методы подготовки образцов должны соответствовать методам исследований, применяемым для оценки биологического действия МИ и исследуемым материалам. Для каждого метода исследований применяют конкретные процедуры отбора и подготовки образцов, конкретные экстрагенты, а также конкретные параметры и условия проведения экстракции.

В настоящем стандарте, по возможности, учтены требования национальных и международных стандартов и технических регламентов.

М Е Ж Г О С У Д А Р С Т В Е Н Н Ы Й С Т А Н Д А Р Т

Изделия медицинские

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Часть 12

Отбор и подготовка образцов для проведения исследований

Medical devices. Biological evaluation of medical devices. Part 12. Selection and preparation of samples for research

Дата введения — 2024—06—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на медицинские изделия (МИ) и материалы, применяемые для их изготовления, и устанавливает требования к отбору и подготовке исследуемых образцов. В настоящем стандарте приведены рекомендации по выбору стандартных образцов (СО), применяемых при проведении исследований для оценки биологического действия МИ/материалов в соответствии со стандартами серии ISO 10993.

Настоящий стандарт устанавливает требования:

- к отбору исследуемых образцов материалов;
- отбору репрезентативных образцов, представляющих собой отдельный компонент МИ;
- подготовке исследуемых образцов;
- экспериментальным контролям;
- СО и их выбору;
- приготовлению исследуемых экстрактов.

Настоящий стандарт не распространяется на живые клетки, при этом стандарт распространяется на материалы или компоненты МИ, представляющие собой комбинированную продукцию, содержащую живые клетки.

Методы экстракции, применяемые для проведения исследований химических свойств материалов/МИ, приведены в ISO 10993-18. Разделы 7—11 [за исключением 10.3.5 и 10.3.11, перечисление b)] допускается применять при проведении экстракции с целью определения химических свойств материалов МИ. Также для этой цели рекомендуется применять С.1—С.4.

2 Нормативные ссылки

Нормативные ссылки в настоящем стандарте отсутствуют.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями.

ISO и IEC ведут терминологические базы данных для использования в стандартизации по следующим адресам:

- Электропедия IEC: доступна на gost.e-ecolog.ru ;
- платформа онлайн-просмотра ISO: доступна на gost.e-ecolog.ru .

Издание официальное

3.1 **контрольный экстрагент** (blank): Экстрагент, не содержащий исследуемый образец, который при проведении экстракции подвергают такому же воздействию в идентичной емкости, в тех же условиях, что и экстрагент с исследуемым образцом.

Примечание — Контрольный экстрагент предназначен для оценки возможных неопределенностей, связанных с емкостью для экстракции, экстрагентом и методом экстракции.

3.2 **сертифицированный стандартный образец;** ССО (certified reference material; CRM): Стандартный образец (СО), одно или несколько определенных свойств которого установлены метрологически обоснованной процедурой, сопровождаемый сертификатом СО, в котором приведено значение этого свойства, связанная с ним неопределенность, и утверждение о метрологической прослеживаемости.

Примечание 1 — Понятие значения включает также номинальное свойство или такой качественный признак, как идентичность или последовательность. Неопределенности для таких признаков могут быть выражены как вероятности или уровни доверия.

Примечание 2 — Метрологически обоснованные процедуры производства и сертификации СО описаны, в том числе, в ISO 17034 и ISO Guide 35.

Примечание 3 — В ISO 31 приведены рекомендации по содержанию сертификатов СО.

Примечание 4 — ISO/IEC Guide 99:2007 содержит аналогичное определение (см. 5.14).

[ISO Guide 30:2015, 2.1.2]

3.3 **преувеличенная экстракция** (exaggerated extraction): Экстракция, в процессе которой происходит высвобождение из МИ химических составляющих в большем количестве по сравнению с количеством, полученным в условиях, имитирующих клиническое применение МИ.

Примечание 1 — Следует убедиться в том, что преувеличенная экстракция не приводит к изменению химического состава экстрагируемого материала или вещества.

3.4 **исчерпывающая экстракция** (exhaustive extraction): Экстракция, проводимая поэтапно до тех пор, пока количество вещества, экстрагируемого из МИ, на последнем этапе станет менее 10 % от количества вещества, измеренного (гравиметрическим или другими методами) на начальном этапе экстракции.

Примечание 1 — Так как невозможно продемонстрировать исчерпывающий характер экстракции следовых экстрагируемых веществ в исследуемом материале, то применяют определение исчерпывающей экстракции, приведенное выше (см. также приложение С).

3.5 **экспериментальный контроль** (experimental control): Вещество с достаточно изученными биологическими реакциями на него, применяемое в конкретном методе для оценки и подтверждения воспроизводимости и соответствия полученных результатов.

3.6 **исследуемый экстракт** (extract): Раствор, полученный в результате экстракции исследуемого образца или контроля.

3.7 **экстрагируемое вещество** (extractable substance): Вещество, высвобождаемое из МИ или конструкционного материала при проведении экстракции с использованием экстрагентов в условиях, которые соответствуют условиям клинического применения или являются более жесткими.

3.8 **однородность** (homogeneity): Постоянство химического и физического состава материала и сохранение его равномерности в ответ на биологическую реакцию организма.

Примечание 1 — СО считают однородным, если установлено, что биологическая реакция в конкретном методе исследования находится в установленных пределах неопределенности для этого метода исследования независимо от партии или серии материала, из которого(й) отобран исследуемый образец.

3.9 **выщелачиваемое вещество** (leachable substance): Вещество, высвобождаемое из МИ или материала при его клиническом применении.

3.10 **отрицательный контроль** (negative control): Материал и/или вещество с достаточно изученными характеристиками, которые при применении в конкретном методе исследования подтверждают воспроизводимость этого метода и соответствие отрицательного, нереактивного или минимального биологического ответа в тест-системе установленным требованиям.

Примечание — В качестве отрицательного контроля, как правило, используют СО, а также контрольный экстрагент (см. 3.1) и исходный экстрагент/растворитель.

3.11 **положительный контроль** (positive control): Материал и/или вещество с достаточно изученными характеристиками, которые при применении в конкретном методе подтверждают воспроизводимость этого метода и соответствие положительного или реактивного биологического ответа в тест-системе установленным требованиям.

3.12 **стандартный образец;** CO (reference material, RM): Материал, достаточно однородный и стабильный по отношению к одному или нескольким определенным свойствам, которые были установлены для того, чтобы использовать его по назначению в измерительном процессе.

Примечание 1 — Стандартный образец — это общее понятие.

Примечание 2 — Свойства могут быть количественными или качественными, например, идентичность веществ или объектов.

Примечание 3 — Применение может включать калибровку измерительной системы, оценивание методики измерений, приписывание значений свойств другим материалам и контроль качества.

Примечание 4 — ISO/IEC Guide 99:2007 содержит аналогичное определение (см. 5.13), но ограничивает распространение термина «измерение» только на количественные значения. Однако в ISO/IEC Guide 99:2007 (5.13, примечание 3) (VIM), специально включено понятие качественных признаков, названных «номинальные свойства».

Примечание 5 — Лаборатория должна подтвердить, что исследования методом моделируемой экстракции проведены с использованием условий клинического применения МИ/материала. Метод моделируемой экстракции применен при условии, что МИ отнесено к категории МИ, оказывающих максимально возможное длительное биологическое действие на организм человека, и при исследовании учтены тип ткани, подвергаемой воздействию, и температура воздействия.

[ISO Guide 30:2015, 2.1.1. Терминологическая статья изменена — добавлено примечание 5]

3.13 **стабильность** (stability): Способность материала сохранять установленные значения свойств в заданных пределах в течение определенного периода времени при хранении в заданных условиях.

Примечание — См. «Сборник аналитической номенклатуры», изданный Международным союзом теоретической и прикладной химии (IUPAC) [5].

3.14 **исследуемый образец** (test sample): МИ, его отдельный компонент или материал (или их репрезентативный образец, изготовленный и обработанный эквивалентными способами), их экстракт или его порция (количество), которые применяют для проведения исследований с целью оценки биологического действия МИ/материала.

4 Общие положения

С целью идентификации опасностей и оценки риска МИ/материалов, возникающих в результате изменений в производственном процессе или ненадлежащего контроля производственного процесса, при отборе и подготовке исследуемых образцов следует учитывать требования ISO 14971. Особое внимание следует уделять технологическим добавкам, непреднамеренным примесям исследуемого материала и примесям, которые могут быть привнесены производственным процессом, например остаточные количества примесей, чистящих и дезинфицирующих средств.

В стандартах серии ISO 10993 установлены различные методы биологических исследований. В связи с этим для определения пригодности метода для исследования конкретного МИ/материала следует руководствоваться соответствующим стандартом этой серии.

Экспериментальный контроль применяют при оценке биологического действия для валидации метода исследования и/или сравнительного анализа результатов исследования разных материалов. В зависимости от применяемого конкретного метода исследования следует использовать либо отрицательный контроль, либо положительный контроль, либо контрольный экстрагент, либо все три одновременно.

Примечание — Контроли одного и того же типа допускается применять в различных методах исследований для обеспечения возможности приводить в отчетах об исследованиях перекрестные ссылки на установленные материалы и методы. Рекомендации по выбору экспериментальных контролей приведены в приложении А. При выборе положительного контроля для исследований методами *in vivo* следует учитывать правила обращения с лабораторными животными.

5 Стандартные образцы

5.1 Общие положения

СО предоставляют специализированные лаборатории. Объем исследования химических, физических и биологических свойств МИ/материала определяет конкретная лаборатория. МИ/материалы, имеющиеся в продаже, допускается применять в качестве СО.

Примечание — См. также ISO Guide 35.

ССО следует выбирать с учетом их степени чистоты, химических характеристик, соответствия предполагаемому применению и общедоступности. Специфические химические, физические и биологические характеристики должны быть определены при межлабораторных исследованиях в трех или более лабораториях и предоставлены исследователю поставщиком.

Исследователю рекомендуется получить от поставщика СО или ССО обязательство о том, что эти материалы будут ему доступны в течение не менее пяти лет, или от изготовителя СО или ССО «открытой формулы», т. е. исходных материалов и деталей технологического процесса, для обеспечения подтверждения однородности партий СО.

5.2 Сертификация стандартных образцов для оценки биологического действия

Валидация СО является процедурой, которая устанавливает количественное или качественное значение биологической реакции организма человека на МИ/материал в определенных условиях, обеспечивая результаты в лабораторных и/или в межлабораторных исследованиях. Диапазон значений биологической реакции на МИ/материал устанавливают в лабораторных исследованиях.

Примечание — См. также ISO 17034.

Поставщик СО должен его сертифицировать. Поставщик определяет объем исследований химических и физических свойств СО. Конкретная лаборатория, использующая СО, должна определить биологические характеристики, необходимые для валидации СО (установления пригодности), с целью применения в конкретном методе исследования. Коммерчески доступные материалы допускается использовать в качестве СО при условии, что они сертифицированы и валидированы в установленном порядке.

Сертификация СО является процедурой, которая устанавливает количественное или качественное значение биологической реакции организма человека на МИ/материал в заданных условиях исследования. Данную процедуру проводят с целью валидации результатов, полученных при исследовании МИ/материала на конкретную биологическую реакцию, и выдачи сертификата. Биологическую реакцию на МИ/материал устанавливают в межлабораторных исследованиях.

6 Использование стандартного образца в качестве экспериментального контроля

СО или ССО используют в биологических исследованиях в качестве экспериментальных контролей (положительного и/или отрицательного) с целью валидации метода исследований и получения воспроизводимых результатов. Таким образом, любой материал, применяемый в качестве экспериментального контроля, должен быть охарактеризован для каждого конкретного метода биологического исследования. Материал, охарактеризованный и сертифицированный для одного референтного метода исследования или биологической реакции, например гиперчувствительности замедленного типа, не допускается использовать как СО для другого — например цитотоксичности, без дополнительной валидации.

Примечание — Использование СО обеспечивает сопоставимость результатов межлабораторных исследований и воспроизводимость результатов исследований, проводимых в конкретных лабораториях. Для сравнения биологической реакции рекомендуется использовать СО, имеющие диапазон биологических реакций, например минимальный, средний или сильный.

СО, используемые в качестве экспериментальных контролей, должны соответствовать требованиям, установленным стандартами менеджмента качества изготовителя и испытательной лаборатории. СО должны сопровождаться сведениями о поставщике, изготовителе, степени чистоты и типе. Подготовку СО проводят в соответствии с разделом 8.

Если СО используют в качестве экспериментальных контролей, то они должны относиться к тому же классу материалов, что и исследуемый материал, т. е. полимер, керамика, металл, коллоидный раствор. Чистые химические вещества допускается использовать в качестве экспериментального контроля для исследований, основанных на механизмах биологического действия, например испытания на генотоксичность и гиперчувствительность замедленного типа.

7 Требования к исследуемым образцам

Исследования проводят на готовом МИ, репрезентативном компоненте готового МИ, материале, обработанном таким же образом, как и материал готового МИ (см. ISO 10993-1), или соответствующем исследуемом экстракте, приготовленном из вышеперечисленного. Выбор исследуемого образца должен быть обоснован.

Примечание — Для исследования материалов, отверждаемых *in situ*, могут потребоваться различные образцы, представляющие собой материал для сравнения в отвержденном и не отвержденном состояниях.

Для абсорбируемых материалов, которые потенциально могут содержать токсичные продукты деградации и примеси, рекомендуется провести исследования промежуточных продуктов.

При проведении исследования с использованием экстракта применяют такую же процедуру отбора исследуемых образцов.

8 Подготовка исследуемых и стандартных образцов

Исследуемые образцы и СО следует обрабатывать в условиях, исключающих контаминацию. Вещества, образовавшиеся в процессе производства, очистки, стерилизации и т. п., следует считать неотъемлемой частью МИ, его компонента или репрезентативного образца.

Примечание — Дополнительные рекомендации по отбору и подготовке образцов приведены в приложении В.

Подготовку исследуемых образцов стерильных МИ и СО следует проводить с учетом требований асептики (если это соответствует методу исследования).

Если для проведения исследования требуются чистые, стерильные и продезинфицированные исследуемые образцы, то их следует обрабатывать способом, рекомендованным изготовителем, в асептических условиях (если это соответствует методу исследования).

Если требуется очистка исследуемых образцов, то при их отборе и подготовке следует учитывать воздействие процесса очистки и чистящих средств.

Исследуемые образцы МИ, которые применяют нестерильными, следует использовать в том виде, в каком их поставляют, при этом обработку исследуемых образцов выполняют с учетом требований асептики на протяжении всего процесса подготовки. Если требуются стерильные исследуемые образцы, например для исследования на цитотоксичность, то при их подготовке следует учитывать воздействие процесса стерилизации или повторной стерилизации на исследуемый образец и СО.

Если исследуемое МИ и СО необходимо разрезать на части (см. 10.3.3), то следует учитывать влияние образовавшихся новых поверхностей, например полостей или поверхностей среза, не подвергавшихся обработке изготовителем. Инструменты, применяемые для разрезания МИ на репрезентативные исследуемые образцы, следует очищать между использованием для исключения контаминации. Кроме того, необходимо следить за тем, чтобы сам инструмент не загрязнял исследуемый образец.

9 Отбор репрезентативных образцов медицинского изделия

9.1 Если невозможно провести исследование целого МИ, то каждый материал, входящий в состав МИ, должен быть представлен в исследуемом образце в соответствующих пропорциях:

- исследуемый образец должен содержать материал покрытия и основной материал МИ, даже если этот материал не контактирует с организмом человека;
- исследуемый образец должен содержать репрезентативную часть материала, используемого для соединения и/или склеивания компонентов МИ, если при изготовлении МИ прямого контакта применяют адгезив (клей), радиочастотное (RF) склеивание или растворитель.

9.2 Композиционный материал исследуют как готовый единый материал.

9.3 Если при изготовлении МИ используют различные материалы, то при отборе исследуемого образца следует учитывать возможность проявления эффектов вследствие взаимодействия и взаимного воздействия материалов.

9.4 Если известна биологическая реакция на компоненты/материалы МИ, то отбор исследуемых образцов следует проводить с учетом максимального воздействия параметров и условий применяемой тест-системы на их характеристики и свойства.

9.5 Компоненты МИ, не контактирующие с организмом человека, по возможности следует исключать при приготовлении исследуемых экстрактов или при расчете условий экстракции не учитывать их площадь поверхности. Если это выполнить невозможно, то условия экстракции должны быть обоснованы. При этом следует убедиться, что все участки образца, потенциально контактирующие с организмом человека, покрыты экстрагентом.

При отборе исследуемых образцов следует учитывать категорию контакта персонала (врача) и пациента с материалами, отличными от тех, которые, как правило, используют в потребительских товарах с аналогичной категорией контакта [см. ISO 10993-1:2018, 5.2.2, a)].

9.6 При отборе исследуемых образцов следует учитывать, что компоненты/материалы МИ с различными категорией и продолжительностью контакта с организмом человека, возможно, потребуется экстрагировать и исследовать отдельно друг от друга.

10 Приготовление экстрактов из исследуемых образцов

10.1 Общие положения

Если для проведения исследования требуется применение экстрактов, то экстрагенты, параметры и условия экстракции должны соответствовать характеристикам и назначению готового к применению МИ и цели исследования, например идентификация опасностей, количественное определение или оценка риска. При выборе условий экстракции следует учитывать физико-химические свойства материалов МИ, выщелачиваемых или остаточных веществ (см. ISO 10993-18 и ISO/TS 10993-19). Для приготовления исследуемых экстрактов из наноматериалов или наноструктурированных материалов см. ISO/TR 10993-22.

Примечание — Дополнительные рекомендации по приготовлению экстрактов из исследуемых образцов приведены в приложении С.

10.2 Емкости для экстракции

Экстракцию следует проводить в чистых, химически инертных, герметично закрытых сосудах емкостях с минимальным не используемым пространством.

Для того чтобы емкость для экстракции не загрязняла исследуемый экстракт, она должна представлять собой пробирку из боросиликатного стекла с крышкой, имеющей прокладку из химически инертного материала, например из политетрафторэтилена. Допускается применять другие емкости из химически инертных материалов в соответствии с требованиями, установленными для конкретных материалов или методов экстракции, либо для того и другого.

10.3 Условия, параметры и методы экстракции

10.3.1 Условия и параметры экстракции, установленные в настоящем стандарте, основаны на общепринятой практике и обоснованы необходимостью применения стандартизованных методов экстракции. Условия и параметры экстракции, установленные в настоящем стандарте, преувеличены относительно условий и параметров клинического применения МИ. Экстракцию следует проводить при одном из следующих условий (см. также С.5):

a) (37 ± 1) °C в течение (24 ± 2) ч;
b) (37 ± 1) °C в течение (72 ± 2) ч;
c) (50 ± 2) °C в течение (72 ± 2) ч;
d) (70 ± 2) °C в течение (24 ± 2) ч;
e) (121 ± 2) °C в течение (1 ± 0,1) ч.

При исследовании на цитотоксичность МИ кратковременного контакта экстракцию исследуемого образца проводят в культуральной среде при температуре (37 ± 1) °C в течение (24 ± 2) ч. При исследовании на цитотоксичность не имплантируемых МИ кратковременного контакта с неповрежденными

кожей или слизистой продолжительность экстракции исследуемых образцов должна составлять менее 24 ч, но не менее чем 4 ч (см. ISO 10993-5). При исследовании на цитотоксичность МИ длительного (воздействие МИ на организм человека составляет более 24 ч и не более 30 сут) или долговременного (воздействие МИ на организм человека составляет более 30 сут) контакта рекомендуемое время экстракции — 72 ч, так как проведение экстракции в течение 24 ч может быть недостаточно для получения исследуемого экстракта, содержащего химические вещества, выделяющиеся после 24 ч клинического применения МИ. В таких случаях все экспериментальные контроли, включая отрицательный и положительный контроли и контрольный экстрагент (т. е. представляющий собой одну культуральную среду), следует инкубировать в течение 72 ч. При наличии данных для МИ длительного и долговременного контакта о том, что 24 ч достаточно для проведения экстракции и извлечения экстрагируемых/выщелачиваемых веществ из МИ в заданных количествах, а увеличение времени экстракции до 72 ч не приводит к высвобождению дополнительных химических веществ из МИ, то допускается проводить экстракцию в течение 24 ч. Следует учитывать, что при проведении экстракции в культуральной среде, содержащей сыворотку крови, температура экстракции, превышающая (37 ± 1) °С, может отрицательно повлиять на химический состав и/или стабильность сыворотки, а также на другие компоненты культуральной среды.

Условия и параметры экстракции, приведенные выше и рекомендуемые для определения степени потенциальной опасности и оценки риска МИ/материала, основаны на результатах исследований. Допускается использовать другие условия и параметры экстракции, соответствующие условиям и параметрам клинического применения МИ или обеспечивающие достоверность результатов оценки потенциальной опасности МИ, при этом эти параметры и условия экстракции должны быть приведены в отчете об исследовании с соответствующим обоснованием.

Экстракция является сложным процессом, на который влияют многие факторы, например время, температура, соотношение площади поверхности исследуемого образца и объема экстрагента, характеристики экстрагента и фазовое равновесие материала. Следует учитывать, что на процесс экстракции конкретных материалов МИ могут оказывать влияние другие факторы. При использовании метода преувеличенной экстракции следует учитывать воздействие на кинетику экстракции более высоких температур и/или других условий и параметров, а также свойства и характеристики конкретного экстрагента.

Фазовое равновесие материала во время экстракции определяет относительное содержание аморфной и кристаллической фаз. Для аморфной фазы температура фазового перехода (стеклования) *Tg* определяет подвижность полимерной цепи и скорость диффузии в данной фазе. Как правило, скорость диффузии при температурах выше *Tg* значительно выше скорости диффузии при более низких температурах. Самая низкая скорость диффузии наблюдается в кристаллической фазе. Условия и параметры экстракции не должны изменять фазовое равновесие материала, так как изменение фазового равновесия может повлечь за собой изменение количества и типа экстрагируемых веществ.

Например, при использовании в процессе экстракции повышенных температур может произойти:

- увеличенное образование поперечных связей (сшивка) и/или полимеризация полимера вследствие чего уменьшится количество свободного мономера, высвобождаемого из полимерного материала в процессе экстракции;
- образование продуктов деградации, которые, как правило, отсутствуют в готовом МИ в условиях его клинического применения.

10.3.2 Если экстракцию материалов, которые предназначены для растворения или абсорбции в условиях клинического применения МИ, проводят с применением параметров и условий, приведенных в настоящем подразделе, то следует учитывать термические свойства (например, температуру стеклования полимеров) материалов и соответствующие условия клинического применения МИ. Исследуемые экстракты таких материалов, приготовленные с применением параметров и условий, приведенных в настоящем подразделе, могут не подходить по показателям pH и осмоляльности для исследования в конкретной тест-системе. Любая корректировка исследуемых экстрактов, проведенная до исследования биосовместимости МИ, должна быть обоснована.

Примечание — Дополнительная информация о подготовке исследуемых образцов абсорбируемых МИ приведена в ISO 10993-3, ISO 10993-6, ISO 10993-13, ISO 10993-14, ISO 10993-15, ISO 10993-18 и ISO/TS 37137-1.

Экстракцию исследуемых образцов следует проводить с использованием соответствующих экстрагентов, времени и температур, чтобы, по возможности, имитировать чрезмерное воздействие биологической среды на МИ/материал. При необходимости допускается осуществлять полное растворение исследуемого образца с использованием экстрагента, параметров и условий, рекомендованных в настоящем стандарте. При этом следует соблюдать осторожность, поскольку при полном растворении

исследуемого образца МИ/материала могут возникнуть трудности при проведении последующего биологического исследования (например, при высокой вязкости исследуемого экстракта его будет трудно ввести животным без предварительного разбавления, при исследовании методами *in vitro* на цитотоксичность в случае повышенных значений осмоляльности или изменения значений pH исследуемого экстракта будет затруднено выполнить интерпретацию полученных результатов). При приготовлении исследуемых экстрактов для определения химических свойств и оценки опасности промежуточных потенциальных продуктов деградации МИ/материала следует дополнительно руководствоваться ISO 10993-17 и ISO 10993-18.

10.3.3 Для определения необходимого объема экстрагента допускается использовать стандартное значение площади поверхности исследуемого образца, которое включает общую площадь поверхности обеих его сторон, контактирующих с биологической средой, за исключением неровностей. Если из-за конфигурации исследуемого образца невозможно определить площадь его поверхности, то необходимо использовать соотношение масса исследуемого образца/объем экстрагента (см. таблицу 1).

Допускается использовать другие соотношения площади поверхности исследуемого образца к объему экстрагента, например те, которые необходимы для оценки пористых материалов, при условии, что в процессе исследования имитируют условия клинического применения МИ или оценивают потенциальную опасность этих материалов (в ISO/TS 10993-19 приведены методы исследования для определения морфологических характеристик пористых материалов).

Для обеспечения полного погружения исследуемого образца в экстрагент допускается разрезать его на мелкие части, за исключением случаев, когда это не допускается (см. 10.3.4). Например, исследуемые образцы полимерных материалов рекомендуется разрезать на части размером приблизительно 10 × 50 мм^2 или 5 × 25 мм^2.

Таблица 1 — Стандартные значения площади поверхности исследуемого образца и объема экстрагента

Толщина исследуемого образца[a], мм	Соотношение экстракции (площадь поверхности или масса исследуемого образца/ объем экстрагента) ±10 %	Примеры форм материалов
< 0,5	6 см^2/мл	Пленки, листы и стенки трубок
От 0,5 до 1,0	3 см^2/мл	Стенки трубок, пластины, небольшие литые МИ
> 1,0	3 см^2/мл	Крупные литые МИ
Твердые МИ неправильной формы	0,2 г/мл	Порошки, гранулы, пена, неабсорбируемые литые МИ, пористые материалы высокой плоности
МИ неправильной формы, изготовленные из пористых материалов (материалов низкой плотности)	0,1 г/мл	Мембраны, текстильные материалы

[a] Если МИ состоит из нескольких компонентов разной толщины, контактирующих с организмом человека, то выбор соотношения экстракции должен быть обоснован. Например, можно рассчитать значение соотношения экстракции для компонента из материала с наименьшей толщиной.

Примечание — Стандартизованные методы исследований полимерных материалов, поглощающих растворы (например, абсорбентов и гидроколлоидов), отсутствуют, поэтому рекомендуется выполнять следующие действия:

- определить объем экстрагента, абсорбируемый каждым 0,1 г или 1,0 см^2 исследуемого образца;
- затем, при проведении экстракции добавить этот дополнительный объем экстрагента на каждый 0,1 г или 1,0 см^2 исследуемого образца.

10.3.4 Эластомерные материалы, материалы с покрытием, композиты, многослойные материалы, по возможности, необходимо исследовать в неповрежденном виде из-за потенциальных различий параметров экстракции неповрежденных и поврежденных поверхностей. Для эластомерных и латексных материалов рекомендуется использовать соотношение экстракции 1,25 см^2/мл, если допускается.

10.3.5 Для проведения экстракции в качестве экстрагента следует применять как полярные, так и неполярные экстрагенты. Для проведения экстракции некоторых конкретных МИ может возникнуть необходимость применения только полярного или только неполярного экстрагента. Если экстракцию проводят с применением только одного экстрагента, то в отчете об исследовании приводят соответствующее обоснование. Ниже приведены примеры полярных и неполярных веществ, применяемых в качестве экстрагентов.

Пример 1 — Полярные экстрагенты: вода, физиологический раствор, культуральная среда, не содержащая сыворотку.

Пример 2 — Неполярные экстрагенты: свежеочищенное рафинированное растительное масло (например, хлопковое или кунжутное) качества, определенного в различных фармакопеях.

Примечание 1 — Дополнительными или альтернативными экстрагентами являются следующие: этанол/вода, этанол/физиологический раствор, полиэтиленгликоль 400 (разбавленный до физиологической осмомолярности), диметилсульфоксид и, если допускается, культуральная среда, содержащая сыворотку.

Примечание 2 — Допускается использовать другие экстрагенты, соответствующие характеристикам и клиническому применению МИ или методам идентификации опасностей, если известно их воздействие на материал МИ и биологическую систему (см. приложение D).

Примечание 3 — Примером МИ, для экстракции которого применяют только один (полярный) экстрагент, является шприц, предварительно заполненный физиологическим раствором.

При исследовании МИ на цитотоксичность для приготовления исследуемого экстракта рекомендуется применять в качестве экстрагента культуральную среду с сывороткой, т. к. она способствует росту клеток и экстрагированию полярных и неполярных веществ.

10.3.6 Исследуемый экстракт готовят при постоянном механическом перемешивании или вращении. Если исследуемый экстракт готовят в статических условиях или при периодическом перемешивании, которые являются приемлемыми, то обосновать и отразить в отчете об исследовании приводят соответствующее обоснование. При выполнении перемешивания или вращения следует соблюдать осторожность, чтобы не повредить исследуемый образец или емкость для экстракции.

10.3.7 Исследуемый экстракт следует, по возможности, использовать сразу после приготовления для предотвращения сорбции экстрагируемых веществ поверхностью емкости для экстракции или других изменений в его составе. Если исследуемый экстракт хранят более 24 ч (например, в холодильнике при температуре от 2 °С до 8 °С), то необходимо проверить его стабильность и гомогенность в заданных условиях хранения.

10.3.8 Корректировку pH исследуемого экстракта допускается проводить только при соответствующем обосновании, приведенном в отчете об исследовании.

10.3.9 Исследуемый экстракт не следует фильтровать, центрифугировать или обрабатывать другими методами для удаления взвешенных частиц. Если необходимо выполнить какую-либо обработку исследуемого экстракта, то в отчете об исследовании должно быть приведено соответствующее обоснование.

10.3.10 При экстрагировании полимерных материалов/МИ, которые не предназначены для растворения или абсорбирования в условиях клинического применения, не допускается применять экстрагенты, вызывающие разрушение полимерного состава. В процессе экстракции с применением в качестве экстрагента летучего растворителя не должно происходить размягчения или деформации исследуемого образца полимерного материала. Экстрагенты не должны отрицательно воздействовать на исследуемый образец материала МИ (например, вызывая сильное набухание, образование частиц и разрушение материала). Перед проведением исследования экстрагент следует удалить до такой степени, чтобы его остатки не оказывали негативного воздействия на тест-систему (например, не вызывали денатурацию белка или раздражение кожи). Экстракцию материалов/МИ, предназначенных для растворения или абсорбирования в условиях клинического применения, проводят в соответствии с 10.3.2, 10.3.11 и С.7.

10.3.11 Для материалов в форме растворов и растворимых материалов МИ стандартные методы экстракции, используемые для нерастворимых материалов, могут оказаться непригодными. При проведении экстракции материалов в форме растворов и растворимых материалов МИ следует применять условия и параметры, установленные в таблице 1, с учетом следующих рекомендаций:

a) при окончательной подготовке к исследованию следует учитывать такие факторы, как совместимость исследуемого экстракта с тест-системой, способ его введения, степень растворения или деградации. По возможности, следует использовать соответствующие экстрагент, параметры и условия экстракции для имитации преувеличенного воздействия МИ на организм человека. Рекомендуется проводить предварительное исследование с целью определения подходящих параметров и условий экстракции;

b) если при экстракции исследуемый образец полностью растворяется в экстрагенте, совместимом с исследуемым материалом и тест-системой, то полученный исследуемый экстракт допускается применять для исследования в чистом виде при условии, что он совместим с тест-системой по свойствам и характеристикам, например по показателю pH, осмоляльности, концентрации растворенных веществ. Если полученный экстракт содержит все компоненты исследуемого материала МИ, то допускается не осуществлять приготовление второго исследуемого экстракта с применением другого экстрагента;

c) если МИ/материал является водным раствором и предназначен для клинического применения в данной форме, то допускается не проводить его экстракцию и исследовать его непосредственно в этой форме при условии, что этот водный раствор совместим с тест-системой по свойствам и характеристикам [см. также перечисления a) и b)];

d) допускается применять руководство ОЭСР по исследованию химических веществ [16] или аналогичные стандарты, устанавливающие методы исследований химических веществ, для определения максимальных концентраций исследуемых веществ с применением конкретных методов испытаний.

10.3.12 Если МИ предназначены для обеспечения циркуляции биологических жидкостей в условиях клинического применения, например экстракорпоральные МИ, то рекомендуется проводить экстракцию путем рециркуляции. Если допускается, то следует преувеличить один или несколько параметров экстракции, например температуру, время, объем экстранента, скорость потока жидкости. В отчете об исследовании должно быть приведено соответствующее обоснование применения выбранных параметров экстракции.

10.4 Условия, параметры и методы экстракции материалов, полимеризующихся *in situ*

Исследование образцов полимерных материалов МИ, полимеризующихся *in situ*, проводят в предполагаемых условиях клинического применения с целью получения информации о потенциальной токсичности их компонентов, вступающих в химическую реакцию в процессе отверждения. При необходимости готовят несколько исследуемых экстрактов в разное время с учетом кинетики полимеризации после смешивания компонентов материала, включая исследуемый экстракт, приготовление которого осуществляют в соответствующее время отверждения материала. При применении исследуемых экстрактов, приготовление которых выполнено после отверждения материала, в отчете об исследовании должно быть приведено соответствующее обоснование. Выбор экстрагента должен быть обоснован исходя из того, что данный экстрагент не влияет на процесс полимеризации и химический состав экстрагируемых веществ.

Для исследования материалов, полимеризующихся *in situ*, с целью оценки биологического действия МИ начальной точкой экстракции является момент отверждения материала, помещенного в заданное место тест-системы.

В методах, в которых исследования проводят непосредственно на материалах, полимеризующихся *in situ*, например исследование на цитотоксичность МИ прямого контакта или нанесения слоя агара, метод имплантации, некоторые методы исследования на генотоксичность и гемолиз МИ прямого контакта, исследуемые образцы подвергают воздействию, аналогичному клиническому применению, с отверждением *in situ* в тест-системе.

Примечание — Для обеспечения проведения исследования на образце необходимых размеров и массы может потребоваться осуществление модифицирования системы его доставки к заданному месту отверждения *in situ* в тест-системе.

11 Сведения, включаемые в отчет об исследовании

Следующие сведения об исследуемом образце должны быть включены в отчет об исследовании материала/МИ (допускается включать другие сведения):

- тип и состав материала (если известны), наименование изготовителя материала, МИ, часть или компонент МИ, которые изготавливают из этого материала (описание, чертеж, фотография или другие способы предоставления необходимой информации):
  - номер партии или серии (при наличии),
  - описание процесса обработки, очистки, стерилизации (при необходимости);
  - метод экстракции, в зависимости от возможности испытательной лаборатории и цели исследования, включая описание экстрагента, соотношения экстракции, условия и параметры экстракции, приспособления для перемешивания экстракта, а также любые отклонения от условий и параметров экстракции, установленных в настоящем стандарте, такие как фильтрация экстракта или экстрагента; описание состояния полученного исследуемого экстракта (например, цвет, прозрачность, наличие любых твердых частиц) и, если возможно, его фотографии;
  - документы (например, схема или фотография) на компоненты МИ, которые отобраны и не отобраны в качестве исследуемых образцов.

Приложение А
(справочное)

Рекомендации по выбору экспериментальных контролей

А.1 Материалы, перечисленные в настоящем приложении, соответствуют требованиям к экспериментальному контролю для проведения указанных исследований. За правильный выбор соответствующего контроля несет ответственность специалист, который проводит исследование (см. таблицу А.1).

Таблица А.1 — Примеры доступных СО и контролей

Исследование	Отрицательный контроль[a]	Положительный контроль[a]
Имплантация	PE	PVC-org. Sn
	Силикон	SPU-ZDEC
	Окись алюминия	Натуральный латекс
	Нержавеющая сталь	—
Цитотоксичность	PE	PVC-org. Sn
	—	SPU-ZDEC
	—	SPU-ZBEC
	—	Натуральный латекс
	—	Полиуретан
Гемолиз	HDPE	Y-3
Раздражение и гемолиз	—	Y-4

[a] Сокращения, приведенные в настоящей таблице, относятся к конкретным материалам, указанным в А.2 и А.3.

Примечание — Информация о СО и контролях предназначена только для исследований в соответствии со стандартами серии ISO 10993, для которых не требуются специальные СО или контроли.

А.2 В качестве отрицательного контроля или СО используют: полиэтилен высокой плотности (HDPE)[1)], полиэтилен низкой плотности[2)], полидиметилсилоксан, не содержащий диоксид кремния[3)], [4)], полипропилен[5)], керамические стержни из окиси алюминия, нержавеющую сталь и технически чистый титановый сплав.

---

1) HDPE (пластик для отрицательного контроля RS), пленка HDPE, RM-C и стержень HDPE, RM-E являются примерами подходящей продукции, имеющейся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользования настоящим стандартом и не является рекламой ISO этой продукции.

2) Трубка ПЭ 140: RAUMEDIC AG является примером подходящей продукции, имеющейся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO этой продукции.

3) Программа биоматериалов, отделение устройств и технологий, Национальный институт сердца, легких и крови, здание Национального института здравоохранения, 7550 Wisconsin Ave., Bethesda, MD 20892, США.

4) Трубка SIK 8363: RAUMEDIC AG является примером подходящей продукции, имеющейся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO этой продукции.

5) Трубка из полипропилена 146: RAUMEDIC AG является примером подходящей продукции, имеющейся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO этой продукции.

А.3 В качестве положительного контроля используют, например, поливинилхлорид, содержащий оловоорганические добавки[1)], стержень из сегментированного полиуретана[2)] или пленки, содержащие диэтилдитиокарбамат (SPU-ZDEC)[3)] или дибутилдитиокарбамат (SPU-ZDBC), поливинилхлорид с известным раздражающим веществом (Genapol X-080)[4)], а также латексы определенного состава, растворы солей цинка и меди. Как правило, вещества, используемые в качестве положительных контролей в методах экстракции, представляют собой растворы фенола и воды.

[1)] Положительный контроль, код 499-300-000-000: Portex Limited является примером подходящей продукции, имеющейся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO этой продукции.

[2)] Полиуретановый стержень ZDEC: RM-F — пример подходящей продукции, имеющейся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO этой продукции.

[3)] Полиуретановые пленки ZDEC: RM-A и ZDBC (SPU-ZDBC): RM-B являются примерами подходящей продукции, имеющейся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO этой продукции.

[4)] Genapol X-080 — Y-3 Pellet и Genapol X-080 — Y-4 Pellet являются примерами подходящей продукции, имеющейся в продаже. Данная информация приведена для удобства пользователей настоящего стандарта и не является рекламой ISO этой продукции.

Приложение В
(справочное)

Дополнительные рекомендации по отбору и подготовке исследуемых образцов

МИ/материал, используемый для проведения биологических исследований, должен быть репрезентативным относительно состава и свойств поверхности готового МИ, а также процессов, используемых при изготовлении МИ (см. раздел 7).

Документация на материалы МИ из пластиков и резины должна включать в себя сведения об их составе, в т. ч. идентификационные данные смол, полимеров и добавок. В описании состава материала должны содержаться сведения о его изготовлении, например информация о термической обработке и о том, является ли материал первичным или получен путем повторного измельчения, и, если он повторно измельчен, то детализация процесса максимально допустимого повторного измельчения.

На исследуемых образцах МИ/материалов, подлежащих повторной стерилизации, следует проводить исследования после их многократной стерилизации, осуществляемой тем же или альтернативным методами, что и готовое МИ.

Например, исследуемый образец материала МИ, который стерилизуют облучением и повторно — окисью этилена, следует исследовать в составе МИ после стерилизации облучением и окисью этилена.

Если возможно определить с надлежащим обоснованием наиболее неблагоприятный вариант воздействия биологической среды на МИ/материал, то исследование проводят после такого воздействия.

Все биологические исследования образцов материалов, вырезанных из МИ, компонентов МИ, или полученных из них экстрактов, рекомендуется проводить в условиях воздействия на их поверхность биологической среды тест-системы. В качестве исследуемого образца допускается применять миниатюрную модель МИ, изготовленную с использованием процессов (экструзии, погружения и т. д.), температур, времени, газовой среды, антиадгезивов, а также таких стадий производства МИ, как отжиг, отверждение, очистка и стерилизация, которые применяют для изготовления МИ. Используя в качестве исследуемого образца миниатюрную модель МИ, можно оценить эффекты, связанные с площадью поверхности, свойствами поверхности, концентрацией выщелачиваемых веществ, поверхностью материала и формой.

Исследуемые образцы металлических материалов должны быть изготовлены из исходного материала и с применением технологических процессов, включая механическую обработку, измельчение, полировку, очистку, пассивацию, в т. ч. обработку поверхности и стерилизацию, которые используют для изготовления МИ.

Исследуемые образцы керамических материалов должны быть изготовлены из исходного порошка и с применением технологических процессов, включая отливку, заливку, формование, спекание, обработку поверхности и стерилизацию, которые используют для изготовления МИ.

Исследуемые образцы МИ/материалов, в которых использованы ткани животного происхождения или их производные и обработанные консервантами, подвергают исследованию после их выдерживания в течение максимального и минимального допустимого времени консервации, предусмотренного изготовителем, создавая тем самым различные условия для диффузии консерванта.

Вместо экстрагирования металлических материалов и последующего исследования полученного экстракта в тест-системах рекомендуется проводить исследования растворов различных концентраций соответствующей соли конкретного(ых) металла(ов), содержащегося (содержащихся) в МИ, для определения опасности иона (ионов) конкретного металла и его (их) наивысшего(их) уровня(ей) концентрации, не вызывающего(их) биологической реакции.

Примечание — При идентификации химических веществ в МИ рекомендуется применять данный принцип при исследовании образцов из органических материалов.

При планировании исследований материалов МИ, предназначенных для имплантации, следует учитывать параметры и условия экстракции, которые могут вызвать образование частиц *in vivo* при клиническом применении МИ и в процессе экстракции.

Количество или масса исследуемого образца и площадь его поверхности должны соответствовать биологическим и физическим ограничениям тест-системы. Для исследований следует использовать образцы количеством или массой, рекомендованными для конкретного метода.

При проведении исследований следует руководствоваться информацией, приведенной в ISO Guide 33, о «правильном использовании» и «неправильном использовании» ССО. В ISO Guide 33 указаны потенциальные варианты недостаточного и чрезмерного использования СО и ССО. В рамках одной лаборатории допускается применять материалы для калибровки измерительного оборудования, используемого для оценки биологической реакции исследуемых материалов.

Приложение С
(справочное)

Дополнительные рекомендации по приготовлению экстрактов из исследуемых образцов

ВНИМАНИЕ — Требования, установленные в настоящем стандарте, к материалам МИ, содержащим белки, следует применять с осторожностью с целью обеспечения проведения экстракции без изменения биологических свойств экстрагируемых материалов.

С.1 Экстракцию проводят с целью получения исследуемого образца (экстракта) для оценки биологического действия МИ/материала.

Для приготовления исследуемого экстракта следует использовать экстрагент, параметры и условия экстракции, соответствующие параметрам и условиям клинического применения МИ, а также предполагаемым результатам и методу исследования (например, цели исследования, обоснованности, чувствительности). Таким образом, параметры и условия экстракции, полученный экстракт будут обеспечивать при проведении исследований соответствующим методом реальные условия клинического применения МИ, достижение цели и предсказуемость результатов исследований.

При проведении экстракции МИ/материала, предназначенного для обеспечения циркуляции жидкостей в условиях клинического применения, например в системах экстракорпорального кровообращения, следует учитывать требования стандартов (при их наличии), распространяющихся на данный МИ/материал, для выбора соответствующих методов экстракции.

Для идентификации опасностей и оценки их риска биологические исследования проводят в преувеличенных и/или реальных условиях клинического применения МИ.

С.2 В настоящем стандарте приведены рекомендации по приготовлению исследуемого экстракта на основе предположения о том, что количество экстрагируемого вещества (веществ) зависит от продолжительности экстракции, температуры, соотношения площади поверхности исследуемого материала и объема экстрагента и его свойств.

С.3 Продолжительность экстракции должна быть достаточной для извлечения максимального количества экстрагируемого вещества. Рекомендуется использовать стандартные параметры и условия экстракции, включая установленные значения времени и температуры экстракции, вместо других необоснованных или нестандартных условий.

С.4 Температура экстракции может быть различной в зависимости от исследуемых материалов. Экстракция не должна вызывать существенной деградации исследуемого материала, за исключением случаев, когда материал предназначен для растворения или резорбции при клиническом применении (см. 10.3.2). Температура экстракции зависит от физико-химических характеристик материала (материалов) МИ. Температура экстракции, выбранная, например, для полимеров, должна быть ниже температуры стеклования. Если температура стеклования ниже температуры клинического применения МИ, то температура экстракции должна быть ниже температуры плавления. Рекомендуемые условия проведения экстракции приведены в 10.3.1.

Ниже приведены примеры значений температур проведения экстракции различных материалов МИ, поясняющие требования 10.3.1:

- материалы, температура плавления или размягчения которых менее (121 ± 2) °С, следует подвергать экстракции при стандартной температуре ниже температуры плавления (например, полиэтилен низкой плотности);
- материалы, подвергаемые гидролизу, следует экстрагировать при температуре, обеспечивающей минимальный гидролиз [например, полиамиды экстрагируют при температуре (50 ± 2) °С];
- материалы, которые стерилизуют паром и содержат жидкость в процессе хранения, следует экстрагировать при температуре (121 ± 2) °С (например, предварительно наполненные диализаторы).

Исследуемые материалы следует экстрагировать при температурах, которые обеспечивают извлечения максимального количества экстрагируемого вещества без деградации материала [например, материалы для фиксирования имплантатов рекомендуется экстрагировать при температуре (37 ± 1) °С, керамические имплантаты — при температуре (121 ± 2) °С].

Для экстракции абсорбируемых материалов см. ISO/TS 37137-1.

Если известно, что абсорбируемые продукты деградации влияют на pH тест-системы, то рекомендуется корректировать значение pH исследуемого экстракта при проведении экстракции для оценки влияния стабильности pH на результаты исследования. При проведении оценки риска биосовместимости в отчете об исследовании приводят обоснование корректировки значений pH, начальное и конечное значения pH исследуемого экстракта, описание процесса корректировки pH и прогнозирование возможных последствий изменений значений pH для клинического применения МИ.

Примечание — Разбавление исследуемого экстракта, как правило, не влияет на значение pH, так как буферная способность (физиологических) растворов, используемых для экстракции, незначительная. Разбавление исследуемого экстракта может эффективно снизить его осмоляльность. При этом осуществляют корректировку значения pH, что, как правило, приводит к повышению осмоляльности. Поэтому рекомендуется проводить корректировку значения pH до разбавления исследуемого экстракта.

Не рекомендуется проводить экстракцию абсорбируемых полимерных материалов при температурах *in vivo*, соответствующих или превышающих температуры стеклования, так как при таких температурах может произойти изменение свойств полимерных материалов (например, деградация), которое не происходит в условиях клинического применения МИ.

Следует учитывать, что проведение экстракции абсорбируемых металлических материалов при повышенных температурах может привести к появлению новых и потенциально нерепрезентативных механизмов коррозии. Таким образом, для проведения экстракции большинства абсорбируемых полимерных и металлических материалов стандартные температуры экстракции, указанные в 10.3.1, могут быть неприменимы. При исследовании абсорбируемых МИ необходимо учесть возможность извлечения частично деградированных материалов и связанных с ними промежуточных продуктов деградации.

С.5 Отношение площади поверхности исследуемого образца к объему экстрагента должно быть достаточным для того, чтобы:

- извлечь максимальные количества экстрагируемого(ых) вещества (веществ) и в достаточном объеме, необходимом для биологического исследования (т. е. объем дозы должен быть в заданных физиологических пределах);
- продемонстрировать потенциальную опасность клинического применения МИ;
- обеспечить полное погружение исследуемого образца в экстрагент.

Рекомендуется использовать стандартные значения площади поверхности исследуемого образца и объема экстрагента (см. 10.3.3) вместо значений параметров, специфичных для конкретного МИ. Следует учитывать, что для повышения чувствительности некоторых методов исследования требуется применение концентрированных исследуемых экстрактов.

Примечание — Концентрирование исследуемых экстрактов может привести к потере летучих веществ, таких как окись этилена.

С.6 Применяемые экстрагенты должны соответствовать следующим требованиям:

- быть пригодными для использования в конкретной биологической тест-системе;
- имитировать экстракцию, которая происходит во время клинического применения МИ;
- обеспечить извлечение максимальных количеств экстрагируемых веществ.

В качестве экстрагентов рекомендуется использовать стандартные полярные и неполярные растворители. В 10.3.5 приведены экстрагенты, которые рекомендуется использовать вместо растворителей, специфичных для конкретного МИ.

Наряду со стандартизованными параметрами экстракции, приведенными в С.5 и С.6, допускается использовать данные, полученные при проведении биологических исследований МИ для других целей, например для оценки риска, формирования и наполнения баз данных стандартизованных параметров.

С.7 При проведении экстракции растворимых и абсорбируемых материалов следует применять:

- параметры экстракции, установленные в таблице 1;
- значения температуры и времени экстракции, указанные в 10.3.1;
- требования 10.3.9 к выполнению фильтрации или центрифугирования.

С.8 Стандартизованные требования к приготовлению исследуемых экстрактов из материалов МИ, полимеризующихся *in situ*, отсутствуют. При приготовлении соответствующего исследуемого экстракта следует учитывать отдельные компоненты материала МИ, время полимеризации, клиническое применение МИ и характеристики применяемых экстрагентов. При планировании исследования следует разработать требования к приготовлению исследуемого экстракта с учетом кинетики полимеризации материала. При выборе экстрагента следует учитывать наличие в исследуемом образце компонентов, неполимеризующихся *in situ*.

Приложение D
(справочное)

Дополнительные рекомендации по проведению исчерпывающей экстракции образцов полимерных материалов для оценки биологического действия медицинских изделий

D.1 Общие положения

Полимерные материалы, как правило, содержат небольшое количество химических веществ низкой молекулярной массы, такие как катализаторы, технологические добавки или другие добавки [19], остаточные мономеры или олигомеры. При оценке биологического действия полимерных материалов основным показателем является токсичность любых выщелачиваемых веществ, которые могут мигрировать из полимерного материала в организм человека во время клинического применения МИ. Данное положение основано на отчете группы Организации экономического сотрудничества и развития (ОЭСР) по проблемам полимерных материалов, связанным со здоровьем человека и исключением полимеров из исследований (см. [15]). В отчете группы ОЭСР указаны следующие четыре характеристики полимерного материала, которые необходимо определять при проведении оценки риска для здоровья человека:

- средняя молекулярная масса;
- содержание химических соединений с низкой молекулярной массой;
- наличие реактивных функциональных групп (см. [17]);
- наличие биодоступных металлов.

Примечание — К веществам низкой молекулярной массы относят химические вещества с молекулярной массой не более 1000 Да.

Для оценки биологического действия полимерных материалов МИ применяют исследуемые образцы (экстракты), приготовленные соответствующими методами экстракции (за исключением биологических исследований методами имплантации, исследований на гемосовместимость и цитотоксичность МИ прямого контакта). В приложении С указано, что для идентификации опасностей рекомендуется применять метод преувеличенной экстракции. Метод исчерпывающей экстракции с использованием органических растворителей рекомендуется применять для идентификации опасностей полимерных материалов МИ длительного и долгосрочного контакта.

При проведении экстракции образцов полимерных материалов следует выполнять следующие рекомендации:

- для идентификации опасностей необходимо, насколько возможно, извлечь из полимерного материала МИ экстрагируемое вещество в максимальных количествах и соответствующим образом использовать исследуемый экстракт в конкретной тест-системе;
- в качестве экстрагентов следует применять биологические жидкие среды, например сыворотку, которые по эффективности экстракции химических веществ (фталатов, 4,4'-метилендианилина, бисфенола-А) из полимерных материалов (см. [21], [29], [22]) сопоставимы с органическими растворителями, например этанолом и метанолом;
- для идентификации и/или количественного определения химических веществ низкой молекулярной массы, содержащихся в полимерных материалах, экстракцию следует проводить с применением органического растворителя в качестве экстрагента.

D.2 Рекомендации по проведению исчерпывающей экстракции

Для изготовления МИ применяют различные полимерные материалы и добавки. Следовательно, невозможно подобрать единый универсальный экстрагент для исчерпывающей экстракции всех полимерных материалов. Например, смесь ацетона и хлороформа использована в качестве экстрагента при проведении исчерпывающей экстракции образцов резины для циклического исследования в соответствии со стандартами ISO/TC 194, в которых приведено сравнение эффективности методов традиционной и исчерпывающей экстракции подготовки исследуемых экстрактов для исследования сенсибилизации к материалам из резины. При этом смесь ацетона и хлороформа, как правило, неприменима в качестве экстрагента для исчерпывающей экстракции всех полимерных материалов, поэтому рекомендуется выбирать подходящие растворители для проведения исчерпывающей экстракции конкретных полимерных материалов МИ (см. [25]).

Ниже приведены рекомендации, которые необходимо выполнять при проведении исчерпывающей экстракции исследуемых образцов полимерных материалов для оценки биологического действия МИ.

Для идентификации опасностей/определения степени риска МИ следует проводить экстракцию исследуемого образца материала МИ как в полярных, так и в неполярных растворителях. Выбранный(е) растворитель(и) не должен (не должны) ухудшать характеристики исследуемого образца (например, сильное набухание, образование частиц и деградацию). В отчете об исследовании должно быть приведено обоснование выбранной температуры экстракции.

Так как продолжительность исчерпывающей экстракции невозможно установить заранее, то ее следует определять следующим образом. Проводят серию последовательных экстракций путем экстрагирования исследуемого

образца в выбранном растворителе в течение определенного периода времени (например, 24 ч). Затем заменяют полученный экстракт свежим растворителем и экстрагируют исследуемый образец в течение еще одного определенного периода времени. Этот процесс повторяют до тех пор, пока уровень экстрагируемого вещества (остаток) на *n*-м этапе последовательной экстракции не составит одну десятую (0,1) от уровня экстрагируемого вещества на первом этапе экстракции (в первом экстракте). После этого экстракцию можно считать полной или исчерпывающей. Для определения того, достигнута ли конечная точка исчерпывающей экстракции, допускается применять гравиметрический метод или другие аналитические методы.

После проведения исчерпывающей экстракции остаток экстрагированных веществ получают путем удаления растворителей выпариванием или высушиванием. В отчете об исследовании должны быть приведены данные, подтверждающие, что в процессе выпаривания или высушивания и последующего восстановления (см. ниже) не произошло высвобождение летучих и/или полулетучих соединений из исследуемого экстракта.

Растворение остатка экстрагированных веществ в растворителе (восстановление) после исчерпывающей экстракции является важным этапом подготовки образцов для биологического исследования. Как правило, экстрагенты для исчерпывающей экстракции отличаются от экстрагентов, используемых для исследований на биосовместимость. Если исчерпывающую экстракцию проводят в органических растворителях, то полученные экстрагируемые/выщелачиваемые вещества из полимерного материала МИ обладают гидрофобными свойствами. Остаток экстрагированных веществ после выпаривания растворителя, как правило, плохо смешивается с культуральной средой и может не полностью растворяться в растворителе, используемом для исследований МИ на биосовместимость. Следовательно, при введении дозы исследуемого экстракта, полученного восстановлением, тест-система будет подвергаться воздействию экстрагируемых/выщелачиваемых веществ в меньших количествах. Результаты биологического исследования будут достоверными, если исследуемый экстракт, полученный после исчерпывающей экстракции (включая высушивание и восстановление), содержит экстрагируемые/выщелачиваемые вещества такого же типа и в тех же количествах по сравнению с экстрагируемыми/выщелачиваемыми веществами, которые содержаться в исследуемых экстрактах после проведения преувеличенной экстракции (см. 10.3 и приложение С).

В некоторых случаях может потребоваться разбавление исследуемого экстракта после восстановленного — для того, чтобы избежать несовместимости с тест-системой. Например, диметилсульфоксид (ДМСО) в концентрации более 1 % цитотоксичен для живых клеток при исследовании на генотоксичность, основанном на анализе живых клеток, таких как анализ лимфомы мыши или анализ хромосомных аберраций *in vitro* (в соответствии с ISO 10993-3). Исследуемый экстракт из ДМСО, полученный методом исчерпывающей экстракции, необходимо разбавить в 100 раз, прежде чем воздействовать им на анализируемые клетки. Если исследуемый экстракт необходимо разбавить перед проведением биологического исследования, то в отчете об исследовании приводят соответствующее обоснование с указанием количества экстрагируемых/выщелачиваемых веществ, введенных в тест-систему. При этом следует учитывать влияние разбавления исследуемого экстракта на чувствительность метода.

Исследуемый экстракт, полученный методом исчерпывающей экстракции, не должен вносить каких-либо неопределенностей в метод биологического исследования.

Библиография

[1] ISO Guide 30:2015, Reference materials — Selected terms and definitions (Стандартные образцы. Некоторые термины и определения)

[2] ISO Guide 31, Reference materials — Contents of certificates, labels and accompanying documentation (Стандартные образцы. Содержание сертификатов, этикеток и сопроводительной документации)

[3] ISO Guide 33, Reference materials — Good practice in using reference materials (Стандартные образцы. Надлежащая практика применения стандартных образцов)

[4] ISO Guide 35, Reference materials — Guidance for characterization and assessment of homogeneity and stability [Стандартные образцы. Общие и статистические принципы сертификации (аттестации)]

[5] ISO/IEC Guide 99:2007, International vocabulary of metrology — Basic and general concepts and associated terms (VIM) [Международный словарь по метрологии. Основные и общие понятия и соответствующие термины (VIM)]

[6] ISO 10993 (all parts), Biological evaluation of medical devices [Оценка биологического действия медицинских изделий (все части)]

[7] ISO 14971, Medical devices — Application of risk management to medical devices (Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям)

[8] ISO 17034, General requirements for the competence of reference material producers (Общие требования к компетентности изготовителей стандартных образцов)

[9] ISO/TS 37137-1, Biological evaluation of medical devices — Part 1: Guidance for absorbable implants (Оценка биологического действия абсорбируемых медицинских изделий. Часть 1. Общие требования)

[10] United States Pharmacopeia/National Formulary, <88> Biological Reactivity Tests, *In Vivo*

[11] The Japan Society for Analytical Chemistry Research Committee of Polymer Analysis, Polymer Analysis Handbook, pp. 549—558, Kinokuniya-Shoten, Tokyo, 1995 (ISBN 4-314-10110-5 C3043)

[12] MHLW Notification by Director, OMDE, Yakushokuki-hatsu 0301 No.20, March 1, 2012. Basic Principles of Biological Safety Evaluation Required for Application for Approval to Market Medical Devices

[13] MHLW Notification (Tsuuchi), Principles for Biological Safety Evaluation of Medical Devices. Iyakushin No.0213001, 2003.02.13

[14] Memorandum (Jimu-renraku). Guidelines for Specific Biological Tests relevant to the Principles, issued by the MHLW Notification No.0213001, 2003.02.13, Iryokiki-Shinsa No.36, 2003.03.19

[15] OECD Environment Directorate, Chemical group and management committee, Third Meeting of OECD Experts on Polymers (Tokyo, 14—16 April 1993), Chairman's Report

[16] OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, gost.e-ecolog.ru
gost.e-ecolog.ru

[17] European Pharmacopoeia 6.0, 3.1 Materials for Containers and Containers, pp. 337—370, 2008

[18] EPA Proposed Rule 40, CFR Part 723 (58FR 7679, February 8, 1993)

[19] Adams W.P., Robinson J.B., Rohrich R.J., Lipid Infiltration as a Possible Biologic Cause of Silicone Gel Breast Implant Aging, Plast. Reconstr. Surg., 101, 1998, p. 64

[20] Ash M. and I. Handbook of Plastic and Rubber Additives, An International Guide to More than 13000 Products by Trade Name, Chemical, Function, and Manufacturer, Gover, USA, 1995 (ISBN 0-566-07594-6)

[21] Braybrook J.H., MacKay G.A. Supercritical fluid extraction of polymer additives for use in biocompatibility testing, Polymer International, 27, 1992, pp. 157—164

[22] Haishima Y., Hayashi Y., Yagami T., Nakamura A., J. Biomed. Mater. Res. (Appl. Biomater.), 58, 2001, pp. 209—215

[23] Fuchs O. Solvents and Non-solvents for Polymers in Polymer Handbook (third edition), edited by Brandrup, J. and Immergut, E.H., VII/379-VII/407, Wiley Interscience, 1989

[24] Matsuoka A., Haishima Y., Hasegawa C., Matsuda Y., Tsuchiya T. Organic-solvent extraction of model biomaterials for use in the in vitro chromosome aberration test. J. Biomed. Mater. Res., Part A, 86, 2008, pp. 13—22

[25] Nakamura et al. Cutaneous and Ocular Toxicology, 22(3), 2003, pp. 169—185

[26] Oba T., Tsuji K., Nakamura A., Shintani H., Mizumachi S., Kikuchi H., Kaniwa M.A., Kojima S., Kanohta K., Kawasaki Y., Furuya T., Matsumoto K., Tobe M. Artificial Organs, 8(4), 1984, pp. 429—435

[27] Reid R.C., Sidman K.R., Schwope A.D., Till D.E. Ind. Eng. Chem. Prod. Res. Dev., 19(4), 1980, pp. 580—587

[28] Reid R.C., Schwope A.D., Sidman K.R. Modeling the migration of additives from polymer films to foods and food simulating liquids, MIT Industrial Liaison Program Report 1-14-84, Directory of Current Research: 3.04.077

[29] Shintani H., Nakamura A. J. Biomed. Mater. Res., 25, 1991, pp. 1275—1286

[30] Tsuji K., Mizumachi S., Iida K., Oba T. Kobunshi Ronbunshu, 34(4), 1977, pp. 287—290

[31] Uphill P.F., Christopher D.H. Developing a Positive Control for Cytotoxicity Testing of Medical Device Materials, Medical Device Technology, Nov./Dec. 1990, pp. 24—27

[32] Vondracek P., Dolezel B. Biostability of Medical Elastomers: A Review, Biomater., 5, 1984, p. 209

[33] Vogel A. Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry: Experimental Techniques (fifth edition), Chapter 2, Revised by Furniss, B.A. et al., John Wiley & Sons, Inc., New York, 1989

УДК 615.46:002:006.354 МКС 11.100.20 IDT

Ключевые слова: медицинские изделия, оценка биологического действия, отбор и подготовка образцов, стандартный образец, сертифицированный стандартный образец, преувеличенная экстракция, исчерпывающая экстракция

Редактор *Е.В. Якубова*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *М.И. Першина*
Компьютерная верстка *Л.А. Круговой*

Сдано в набор 11.10.2023. Подписано в печать 31.10.2023. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 2,79. Уч.-изд. л. 2,00.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «Институт стандартизации»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.

gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru

gost.e-ecolog.ru