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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 10993-3— 2018

ИЗДЕЛИЯ МЕДИЦИНСКИЕ. ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Часть 3

Исследования генотоксичности, канцерогенности и токсического действия на репродуктивную функцию

(ISO 10993-3:2014,
Biological evaluation of medical devices — Part 3:
Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity, IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2018

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели, основные принципы и основной порядок проведения работ по межгосударственной стандартизации установлены в ГОСТ 1.0—2015 «Межгосударственная система стандартизации. Основные положения» и ГОСТ 1.2—2015 «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 30 августа 2018 г. № 111-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
Беларусь	BY	Госстандарт Республики Беларусь
Киргизия	KG	Кыргызстандарт
Россия	RU	Росстандарт
Узбекистан	UZ	Узстандарт

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 3 октября 2018 г. № 698-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 10993-3—2018 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 июня 2019 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 10993-3:2014 «Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 3. Исследование генотоксичности, канцерогенности и токсического действия на репродуктивную функцию» («Biological evaluation of medical devices — Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity», IDT).

Наименование настоящего стандарта изменено относительно наименования указанного международного стандарта для увязки с наименованиями, принятыми в существующем комплексе межгосударственных стандартов.

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им межгосударственные стандарты, сведения о которых приведены в дополнительном приложении ДА

6 ВЗАМЕН ГОСТ ISO 10993-3—2011

*Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодном информационном указателе «Национальные стандарты», а текст этих изменений и поправок — в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячном информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет (*gost.e-ecolog.ru

© ISO, 2014 — Все права сохраняются
© Стандартинформ, оформление, 2018

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 2
4 Основные требования 2
4.1 Общие положения 2
4.2 Дополнительные требования к тестам для оценки канцерогенности 3
4.3 Дополнительные требования к тестам для оценки токсического воздействия на репродуктивную функцию 3
5 Тесты на генотоксичность 4
5.1 Общие положения 4
5.2 Стратегия исследования 4
5.3 Подготовка образцов 6
6 Тесты на канцерогенность 6
6.1 Общие положения 6
6.2 Стратегия исследования 7
6.3 Подготовка образцов 7
6.4 Методы исследования 8
7 Тесты для оценки токсического воздействия на репродуктивную функцию и развитие потомства 9
7.1 Общие положения 9
7.2 Стратегия исследования 9
7.3 Подготовка образцов 9
7.4 Методы исследования 10
8 Отчет об исследовании 10
Приложение А (справочное) Руководство по выбору приемлемой процедуры подготовки образцов при исследовании генотоксичности 11
Приложение В (справочное) Блок-схема для последующей оценки полученных результатов 17
Приложение С (справочное) Обоснование тест-системы 18
Приложение D (справочное) Тест-системы для оценки клеточной трансформации 20
Приложение Е (обязательное) Исследование канцерогенности с использованием имплантационного теста 21
Приложение F (справочное) Тесты *in vitro* для оценки эмбриотоксичности 22
Приложение ZA (справочное) Взаимосвязь между настоящим стандартом и основными требованиями Директивы ЕС 93/42 ЕЕС по медицинским изделиям 23
Приложение ZB (справочное) Взаимосвязь между настоящим стандартом и основными требованиями Директивы ЕС 90/385/ЕЕС по активным имплантируемым медицинским изделиям 24
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов и документов межгосударственным стандартам 25
Библиография 27

Введение

ISO (Международная организация по стандартизации) является Всемирной федерацией национальных органов по стандартизации (органов — членов ISO). Подготовку международных стандартов проводят технические комитеты. Каждый комитет-член, заинтересованный в деятельности, для которой создан технический комитет, имеет право быть представленным в этом комитете. Международные организации, правительственные и неправительственные, имеющие связи с ISO, также принимают участие в работе. ISO тесно сотрудничает с Международной электротехнической комиссией (IES) по всем вопросам электротехнической стандартизации.

Процедуры, примененные при разработке настоящего стандарта, а также процедуры, предназначенные для его дальнейшей поддержки, описаны в части 1 Директив ISO/IEC. В частности, следует обратить внимание на различные критерии утверждения для различных типов документов ISO. Настоящий стандарт составлен в соответствии с редакционными правилами части 2 Директив ISO/IEC (www.iso.org/directives).

Необходимо учитывать возможность того, что некоторые из элементов настоящего стандарта могут быть объектом патентных прав. ISO не должна нести ответственность за идентификацию определенного или всех патентных прав. Подробности описания патентных прав, определенного при разработке настоящего стандарта, будут включены в предисловие и/или в список ISO полученных патентных заявлений (gost.e-ecolog.ru). Любая торговая марка упоминается в настоящем стандарте для удобства пользователей и не служит рекламой.

ISO 10993-3 подготовлен техническим комитетом ISO/TC 194.

Основные технические изменения:

a) стратегия исследований изменена путем включения тестов *in vivo* и последующей оценки;

b) введено новое приложение A «Руководство по выбору приемлемой процедуры приготовления проб при изучении генотоксичности»;

c) введены тесты *in vitro* и *in vivo* для оценки генотоксичного потенциала медицинских изделий;

d) введено приложение B «Блок-схема для последующей оценки полученных результатов»;

e) заменено наименование приложения E на «Исследования канцерогенности с использованием имплантационного теста», а также его статус «обязательное»;

f) введено приложение F «Тесты *in vitro* для оценки эмбриотоксичности».

В серию ISO 10993 входят следующие части под общим названием «Оценка биологического действия медицинских изделий»:

- часть 1 «Оценка и испытания в рамках процесса менеджмента риска»;
- часть 2 «Требования к охране здоровья животных»;
- часть 3 «Испытания на генотоксичность, канцерогенность и токсичность, влияющие на репродуктивность»;
- часть 4 «Выбор испытаний, относящихся к взаимодействию с кровью»;
- часть 5 «Испытания на цитотоксичность *in vitro*»;
- часть 6 «Испытания для определения локальных эффектов после имплантации»;
- часть 7 «Остатки при стерилизации этиленоксидом»;
- часть 9 «Структура идентификации и квантификации потенциальных продуктов разложения»;
- часть 10 «Пробы на раздражение и аллергическую реакцию кожи»;
- часть 11 «Исследования общетоксического действия»;
- часть 12 «Приготовление проб и стандартные образцы»;
- часть 13 «Идентификация и количественная оценка продуктов разложения в полимерных медицинских устройствах»;
- часть 14 «Идентификация и количественная оценка продуктов разложения керамики»;
- часть 15 «Идентификация и количественная оценка продуктов разложения металлов и сплавов»;
- часть 16 «Концепция токсикокинетических исследований продуктов разложения и выщелачиваемых веществ»;
- часть 17 «Установление допустимых пределов выщелачиваемых веществ»;
- часть 18 «Определение химических характеристик материалов»;
- часть 19 «Физико-химическая, морфологическая и топографическая характеристика материалов (технические требования)»;

- часть 20 «Принципы и методы иммунотоксикологических испытаний медицинских изделий (технические требования)»;
- часть 33 «Руководство по испытаниям на генотоксичность. Дополнение к ISO 10993-3».

Следующие определения применимы для понимания внедрения международного стандарта ISO и другой нормативной документации ISO [технические требования (TS), общедоступная спецификация (PAS), международные экспертные соглашения (IWA)]:

- «следует» — требование;
- «необходимо» — рекомендация;
- «можно» — разрешено;
- «возможно» — организация или физическое лицо способны к определенному действию.

Часть 2 (шестое издание, 2011 г.), 3.3.1 Директив ISO/IES определяет требование как «выражение содержания документа, передающее критерий, необходимый для выполнения без отклонений, если заявлено соответствие документу».

Часть 2 (шестое издание, 2011 г.), 3.3.2 Директивы ISO/IES определяет рекомендацию как «выражение в содержании документа, указывающее на то, что среди нескольких возможностей одна рекомендуется как наиболее подходящая, без упоминания или исключения других, или что определенный подход предпочтителен, но необязателен, или (в отрицательной форме) что определенная возможность или подход нежелательны, но не запрещены».

Основа биологической оценки медицинских изделий часто признается эмпирической и мотивируется соответствующими аспектами безопасности человека. Особенно важно учитывать риски серьезных и необратимых эффектов, таких как рак или аномалии второго поколения. При предоставлении безопасных медицинских изделий неотъемлемо максимально возможное снижение таких рисков. Оценку мутагенной, канцерогенной и репродуктивной опасностей признают основным компонентом контроля этих рисков. Не все методы исследования для оценки генотоксичности, канцерогенности и токсического действия на репродуктивную функцию одинаково хорошо разработаны, а их применимость неравнозначно установлена для исследования медицинских изделий.

Значительные проблемы с размерами исследуемых образцов и их приготовлением, научное понимание механизма заболеваний и валидация тестов могут ограничивать применение существующих методов. Например, недостаточно изучено биологическое значение канцерогенеза, индуцируемого инородными телами. Ожидается, что достижения проводимых научных и медицинских исследований улучшат понимание и подход к этим серьезным по своему действию токсикологическим эффектам. Предлагаемые методы исследования являются наиболее приемлемыми на момент подготовки настоящего стандарта. Научно обоснованные альтернативы предлагаемым методам исследования могут быть применимы, если они относятся к соответствующим аспектам оценки безопасности. При выборе тестов, необходимых для исследования конкретного медицинского изделия, обязательна тщательная оценка возможного применения для человека и потенциальных взаимодействий медицинского изделия с различными биологическими системами. Эти аспекты становятся особо значимыми в таких областях, как репродуктивная и онтогенетическая токсикология.

В настоящем стандарте представлены методы исследования для выявления конкретных биологических опасностей, а также стратегии для выбора методов исследования, которые помогут при определении опасностей. Исследование не всегда необходимо или полезно при управлении токсикологическими рисками, связанными с воздействием материала изделия, но в том случае, если это приемлемо, важно достичь максимальной чувствительности теста. Множество возможных последствий и важность таких факторов, как степень воздействия, видовые различия, механические и физические аспекты, означают, что оценка риска должна быть проведена в каждом конкретном случае.

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ИЗДЕЛИЯ МЕДИЦИНСКИЕ. ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Часть 3

Исследования генотоксичности, канцерогенности и токсического действия на репродуктивную функцию

Medical devices. Biological evaluation of medical devices.
Part 3. Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity

Дата введения — 2019—06—01

1 Область применения

Настоящий стандарт предназначен для формирования стратегии с целью оценки риска, выбора тестов для определения опасностей и менеджмента риска с точки зрения возможности следующих потенциально необратимых биологических изменений, возникающих в результате воздействия медицинских изделий:

- генотоксичности;
- канцерогенности;
- токсического действия на репродуктивную функцию и развитие.

Настоящий стандарт применяется для оценки потенциального генотоксического, канцерогенного эффектов или токсического действия на репродуктивную функцию при использовании медицинского изделия.

Примечание — Руководство по выбору тестов приведено в ISO 10993-1.

2 Нормативные ссылки

Следующие документы необходимы для применения настоящего стандарта. Для датированной ссылки применяется только указанное издание. Для недатированной — последнее издание ссылочного документа, включая все поправки к нему:

ISO 10993-1, Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing within a risk management process (Оценка биологическая медицинских изделий. Часть 1. Оценка и испытания в рамках процесса менеджмента риска)

ISO 10993-2, Biological evaluation of medical devices — Part 2: Animal welfare requirements (Оценка биологическая медицинских изделий. Часть 2. Требования к охране здоровья животных)

ISO 10993-6, Biological evaluation of medical devices — Part 6: Tests for local effects after implantation (Изделия медицинские. Оценка биологического действия. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации)

ISO 10993-12, Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials (Биологическая оценка медицинских изделий. Часть 12. Приготовление проб и стандартные образцы)

ISO 10993-18, Biological evaluation of medical devices — Part 18: Chemical characterization of materials (Оценка биологическая медицинских изделий. Часть 18. Определение химических характеристик материалов)

Издание официальное

OECD[1] 414, Prenatal Development Toxicity Study (Исследование токсического действия на пренатальное развитие)

OECD 415, One-Generation Reproduction Toxicity Study (Изучение репродуктивной токсичности одного поколения)

OECD 416, Two-Generation Reproduction Toxicity (Изучение токсического действия на репродуктивную функцию в пределах двух поколений)

OECD 421, Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (Скрининговый тест токсического действия на репродуктивную функцию и развитие)

OECD 451, Carcinogenicity Studies (Исследования канцерогенности)

OECD 453, Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies (Комбинированные исследования хронической токсичности/канцерогенности)

OECD 473, In vitro Mammalian Chromosome Aberration Test (Тест оценки хромосомной аберрации у млекопитающих *in vitro)*

OECD 476, In vitro Mammalian Cell Gene Mutation Tests using the Hprt and xprt genes (Тест клеточной генной мутации в млекопитающих *in vitro)*

OECD 487, In vitro Mammalian Cell Micronucleus Test (Микроядерный тест на клетках млекопитающих *in vitro*)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ISO 10993-1, ISO 10993-12, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 **исследование на канцерогенность:** Тест для определения потенциальной онкогенной опасности изделий, материалов и/или экстрактов из них при многократном воздействии в течение значительной части жизненного цикла экспериментального животного.

3.2 **энергоактивное медицинское изделие:** Изделие, предназначенное для терапевтического действия или диагностики с помощью электромагнитного, ионного или ультразвукового излучения.

Примечание — Это не относится к устройствам, вырабатывающим электрический ток, таким как электрокаутеры, кардиостимуляторы или функциональные электростимуляторы.

3.3 **тест на генотоксичность:** Тест, в котором используют клетки млекопитающих и других животных, а также бактерии, дрожжи, грибы или животных для определения генных мутаций, изменений хромосомной структуры или других изменений генов или ДНК, вызванных изучаемыми материалами.

3.4 **максимально переносимая доза;** МПД: Максимальное количество имплантируемого материала, которое экспериментальное животное переносит без негативных физических эффектов.

3.5 **тесты для изучения воздействия на репродуктивную функцию и развитие:** Тесты для оценки потенциального воздействия изучаемых материалов на репродуктивную функцию, эмбриогенез (тератогенность), пренатальное и постнатальное развитие.

3.6 **подготовка исследуемых образцов:** Остаточные, экстрагируемые, выщелачиваемые вещества, а также изделия из биодеградируемых материалов, ресуспендированные в несущей среде, совместимой с системой исследования.

4 Основные требования

4.1 Общие положения

ISO 10993-1 обозначает условия, при которых потенциальные генотоксичность, канцерогенность и репродуктивная токсичность являются значимым риском при общей оценке биологической безопасности. Тестирование данных эффектов должно быть проведено на основе оценки риска. При определении того, требуется ли исследование генотоксичности, канцерогенности или репродуктивной токсичности изделия, оценка риска должна учитывать следующие факторы:

- анализ химических составляющих материала(ов) изделия, включая остаточные продукты производственного процесса, деструкции или метаболиты, для определения проблемных аспектов на основе

[1] Организация экономического сотрудничества и развития.

взаимодействия «структура—активность» или предшествующей демонстрации соответствующей токсичности в химическом классе;

- механистическая основа токсичности, если доступна;
- существующая информация по оценке генотоксичности, канцерогенности и репродуктивной токсичности медицинского изделия;
- степень предшествующего использования сопоставимых материалов в соответствующих применениях;
- рассмотрение остаточных веществ готового изделия на предмет их качественной характеристики и потенциальной биологической активности (т. е. взаимодействие «структура—активность» или уже имеющиеся соответствующие результаты);
- путь воздействия;
- популяция пациентов;
- степень и длительность локального (в месте имплантации или применения) и системного воздействия;
- ожидаемое влияние результатов исследований (либо их отсутствия) на оценку рисков;
- изменения в виде или количестве остаточных веществ, влиянию которых подвергается пациент либо в результате увеличения влияния изделия, либо при увеличении размеров изделия по сравнению с эквивалентным изделием.

Часто используемые способы оценки риска [например, уровни порога токсикологической угрозы (TTC)] могут быть полезны при оценке этих факторов.

Если анализ состава материалов изделия обнаруживает наличие химических составляющих, которые являются проблематичными, но существующие данные по токсичности неадекватны, следует рассмотреть исследование отдельных химических веществ. Отдельные химические вещества должны быть исследованы с предпочтением к составным материалам или экстрактам, если это улучшит оценку риска. Если требуется исследование материала изделия, его проводят на готовом изделии (включая стерилизацию, если применимо), либо на репрезентативных материалах готовых изделий, либо на материалах, обработанных тем же методом, что и готовое изделие (включая стерилизацию, если применимо). Решение о проведении исследования и природа исследуемого образца должны быть обоснованы и отражены документально. Возможно, потребуются дополнительные исследования для характеристики продуктов износа изделий или изделий из материалов, отвердевающих *in situ* (например, цементы, адгезивы и форполимерные смеси), кроме тех случаев, когда токсикологическая оценка риска не определяет опасностей, связанных с дополнительными состояниями устройства/материалов. В ISO 10993-12 приведена информация относительно изделий, отвердевающих *in situ*.

4.2 Дополнительные требования к тестам для оценки канцерогенности

При исследовании канцерогенности в дополнение к 4.1 должны быть рассмотрены следующие факторы:

- физические характеристики (например, размер и форма частиц, пор, общая площадь и состояние поверхности, плотность изделия);
- результаты оценки теста на генотоксичность и имплантационного теста, а также других исследований.

4.3 Дополнительные требования к тестам для оценки токсического воздействия на репродуктивную функцию

При исследовании репродуктивности в дополнение к 4.1 следует рассмотреть общую длительность прямого или непрямого кумулятивного контакта с репродуктивной тканью, эмбрионом/плодом или половыми клетками.

Любая информация из опубликованных исследований по эффекту материалов изделия на мужские/женские репродуктивные органы или результаты субхронических/хронических исследований гистопатологии репродуктивной системы должны также формировать основу до проведения полномасштабного исследования репродуктивной токсичности.

5 Тесты на генотоксичность

5.1 Общие положения

Перед принятием решения о проведении исследования на генотоксичность следует учитывать положения ISO 10993-1. Обоснование программы исследований с учетом всех значимых факторов, приведенных в 4.1—4.3, должно быть документально зафиксировано.

Исследования генотоксичности предназначены для обнаружения двух основных классов генетического повреждения:

- генные мутации (точечные мутации);
- хромосомные повреждения [структурные аберрации, такие как транслокации, малые или большие делеции и вставки, а также численные хромосомные аберрации (анеуплоидия)].

5.2 Стратегия исследования

5.2.1 Общие положения

Ни один тест не способен определить все значимые генотоксичные агенты. Следовательно, обычным подходом является постановка батареи тестов *in vitro* и, при определенных обстоятельствах, тестов *in vivo*.

Показано, что в тесте оценки обратных мутаций на бактериях обнаруживают значимые генетические изменения, вызываемые большинством генотоксичных канцерогенов, определяемых в тестах на грызунах. Определенные классы генотоксикантов, например галоидные алкилы, этот тест не выявляет. Способность исследуемых материалов повреждать ДНК в бактериальных системах может быть не связана с их вероятным эффектом в эукариотических клетках, в связи с чем следует тестировать вещества на клетках млекопитающих при отсутствии других доказательств.

Используя несколько тест-систем на клетках млекопитающих, определяют: крупные хромосомные повреждения (тесты *in vitro* на структурные и численные хромосомные аберрации); системы, которые выявляют первичные генные мутации (HPRT мутационный тест), и систему, которая выявляет генные мутации и кластогенные эффекты [тест по определению тимидинкиназы (ТК) в лимфоме мышей с определением количества и размера колоний].

Тест оценки хромосомных повреждений *in vitro* и тест ТК в лимфоме мышей дают эквивалентные результаты. Результаты обоих исследований имеют относительно высокий уровень конгруэнтности для соединений, которые рассматриваются как генотоксичные, но дают отрицательные результаты в тесте оценки обратных мутаций на бактериях. Таким образом, тест оценки хромосомных аберраций и тест оценки ТК в лимфоме мышей в настоящий момент считают равнозначными при использовании наряду с тестом оценки обратных мутаций на бактериях в стандартной батарее тестов для определения генотоксичности.

5.2.2 Батарея тестов

При исследовании генотоксичности батарея тестов включает:

a) тест для определения генных мутаций на бактериях (OECD 471), модифицированный для медицинских изделий, например для возможности исследований экстрактов изделий (см. положение 6 ISO/TR 10993-33); либо

b) тест оценки хромосомных аберраций *in vitro* на клетках млекопитающих (OECD 473), модифицированный для медицинских изделий (см. положение 7 ISO/TR 10993-33); или

c) тест определения ТК в лимфоме мышей *in vitro* (OECD 476), модифицированный для медицинских изделий, включая обнаружение малых (или медленно растущих) и крупных колоний (см. положение 9 ISO/TR 10993-33) или

d) микроядерный тест на клетках млекопитающих *in vitro для* определения хромосомных повреждений и анеугенности (OECD 487), модифицированный для медицинских изделий (см. положение 8 ISO/TR 10993-33).

Если необходимо рассмотреть дополнительные значимые факторы (такие как механизм генотоксичности и фармакокинетику), которые могут повлиять на генотоксическую активность соединения, можно проводить исследование *in vivo*, если это оправдано. Тест оценки хромосомных повреждений *in vivo* гематопоэтических клеток грызунов может являться либо анализом хромосомных аберраций или микроядер в клетках костного мозга, либо анализом микроядер в эритроцитах периферической крови

[см. ISO/TR 10993-33, положение 10 (OECD 474) или положение 11 (OECD 475)]. Тест оценки хромосомных повреждений *in vivo* в гематопоэтических клетках грызунов, если возможно, должен быть проведен с использованием двух экстрактов (см. ISO 10993-12 или приложение А). Предпочтительным путем введения экстрактов в полярных растворителях является внутривенный; предпочтительным путем введения экстрактов в неполярных растворителях — интраперитонеальный.

Тест *in vivo* не обязательный, если исследователь может продемонстрировать, что количество экстрагируемых веществ из исследуемого образца менее, чем количество материала, которое может вызвать положительный эффект подобно хорошо охарактеризованному в микроядерном тесте *in vivo* генотоксиканту. Примером может служить цисплатин (номер CAS 15663-27-1), который показал положительный ответ в дозе 0,3 мг/кг (см. [35]).

5.2.3 Последующая оценка полученных результатов

Если исследование генотоксичности проводят в соответствии с 5.2.2, а результаты двух тестов *in vitro* являются отрицательными, дальнейшее тестирование генотоксичности на животных не является необходимым. Если какой-либо тест дает положительные результаты, то применима следующая пошаговая процедура (см. приложение В).

Шаг 1: идентификация побочных факторов, влияющих на результаты начального набора тестов по оценке генотоксичности, при их наличии

a) Идентификация побочных условий исследования (например, нефизиологические условия, взаимодействие исследуемого образца с культуральной средой, автоокисление и цитотоксичность).

b) Идентификация метаболических эффектов (например, природа экзогенной метаболической системы, природа метаболического профиля, уникальные метаболиты).

c) Идентификация примесей путем оценки химического состава, т. е. исследование ингредиентов материала или аналитическое тестирование.

Шаг 2: оценка весомости доказательства (WOE) с учетом механизма и способа действия (MOA)

a) Прямое ДНК-взаимодействие по сравнению с непрямым ДНК-взаимодействием.

b) Наличие анеуплоидии и полиплоидии. Задействован ли механизм анеуплоидии?

Шаг 3: принятие решения

Определить, является ли экстракт медицинского изделия или данное химическое вещество генотоксикантом и если является:

a) интерпретация результатов и анализ WOE/MOA в контексте оценки токсикологического риска представляют низкое/незначительное значение для пациентов при ожидаемом использовании; или

b) интерпретация результатов и анализ WOE/MOA в контексте оценки токсикологического риска предполагают потенциальный риск для пациентов при ожидаемом использовании.

При решении a) дальнейших исследований и оценок не требуется.

При решении b) переходят к шагу 4.

Шаг 4: управление риском

Управляют рисками, учитывая генотоксическую опасность, либо проводят дальнейшие подходящие тесты *in vitro* и/или *in vivo*.

Шаг 5: выбор и проведение дополнительного исследования *in vitro* и/или *in vivo*

Любой тест *in vivo* должен быть выбран на основе наиболее подходящих показателей, определенных в тестах *in vitro*.

Обычно используемые тесты *in vivo:*

a) микроядерный тест на грызунах (OECD 474);

b) метафазный анализ клеток костного мозга грызунов (OECD 475);

c) тесты оценки мутагенности на трансгенных животных (OECD 488).

Выбор наиболее подходящей системы исследований должен быть обоснован и отражен документально.

Примечание — В последнее время разрабатывается проект руководства OECD по исследованиям химических веществ методом гель-электрофореза изолированных клеток грызунов (тест ДНК-комет) для изучения генотоксичности. Это исследование может оказаться ценным для исследования медицинских изделий, но на момент издания настоящего стандарта руководство OECD не опубликовано[1)].

[1)] Проект руководства OECD по исследованиям химических веществ — тест ДНК-комет на клетках млекопитающих (щелочной вариант) *in vivo* доступен на gost.e-ecolog.ru

Следует продемонстрировать, что исследуемое вещество достигло органа-мишени. В микроядерном тесте на крысах или метафазном анализе клеток костного мозга грызунов биодоступность подтверждается одним из следующих подходов:

- количественным анализом конкретных соединений экстракта в крови или сыворотке;
- цитотоксичностью для клеток костного мозга, индуцированная исследуемым экстрактом;
- внутривенным путем воздействия (для полярных растворителей).

Если воздействие на орган-мишень не может быть продемонстрировано, следует проводить повторное исследование *in vivo* на другом органе-мишени для подтверждения отсутствия генотоксичности *in vivo.*

Шаг 6: повторная оценка всех собранных данных и определение генотоксичности исследуемого образца

В некоторых случаях положительные результаты *in vitro* могут быть незначимыми. Необходимо учитывать следующее при определении общей достоверности результатов *in vitro* (данный список не является исчерпывающим, но приводится в качестве вспомогательного средства в процессе принятия решения):

a) только один из двух оригинальных тестов *in vitro* показал положительный результат;

b) дальнейшее исследование *in vitro* с использованием сходных механистических показателей не подтвердило положительного результата;

c) механистическая информация показывает, что положительные результаты *in vitro* не являются значимыми в ситуациях *in vivo* (например, высокая цитотоксичность, осмолярность и т. д.);

d) исследование *in vivo,* включая доказательства, что исследуемый образец достиг органа-мишени, не продемонстрировало генотоксичности.

Общая WOE и интерпретация всего набора данных должны быть отражены документально с окончательным заключением. В некоторых случаях могут потребоваться сайт-специфичные тесты или тесты на спефические генетические показатели. В большинстве случаев такие исследования не имеют международных признанных протоколов.

5.3 Подготовка образцов

Кроме тех случаев, где образец может быть растворен в растворителе, совместимом с тест-системой, надлежащие экстрагенты должны быть выбраны на основе их способности максимально экстрагировать материал или медицинское изделие до уровня, при котором концентрация генотоксичных остаточных веществ будет достаточной для произведения положительного ответа в системе исследования, но без деструкции изделия или исследуемого образца. Растворитель для тест-системы должен быть выбран на основе их совместимости с тест-системой оценки генотоксичности. Тесты должны быть проведены с использованием растворов, суспензий (например, метод А в приложении А), экстрактов (в частности, метод С в приложении А) или сверхагрегированных экстрактов (см. метод В в приложении А) готового изделия (включая стерилизацию, если применимо), материала изделия, компонента изделия или отдельных химических веществ изделия. Материалы изделия проходят все технологические стадии переработки, если иное не обосновано. Считается неприемлемым проводить исследования на исходных сырьевых материалах, так как технологические стадии переработки могут изменить степень токсичности готового изделия.

Обоснование для выбора исследований отдельных химических веществ должно быть аргументировано и отражено документально. Обоснование включает рассмотрение возможных взаимодействий между химическими веществами, включая эффекты синергизма. При необходимости исследуемый материал должен быть подвергнут экстракции двумя растворителями (см. ISO 10993-12 или приложение А). Любое решение не проводить исследование с растворителем одного класса должно быть обосновано и отражено документально.

6 Тесты на канцерогенность

6.1 Общие положения

До принятия решения о проведении исследования канцерогенности медицинского изделия следует внимательно изучить ISO 10993-1. Решение о проведении исследования должно быть принято на основании оценки риска канцерогенеза, вызываемого использованием медицинского изделия. Исследование на канцерогенность не следует проводить, если риск может быть адекватно оценен или сокращен

без получения новых результатов канцерогенных исследований. Эти тесты могут быть спланированы для одновременного изучения как хронической токсичности, так и канцерогенности. Когда хроническую токсичность и канцерогенность оценивают в одном исследовании, следует уделить особое внимание планированию исследований, чтобы обеспечить соответствующий диапазон доз. Это поможет предотвратить или минимизировать преждевременную смертность от хронической/кумулятивной системной токсичности, дискредитирующую статистическую оценку данных, полученных от животных, выживших до конца исследования (т. е. с нормальной продолжительностью жизни).

Примечание — Существуют подходящие системы исследования клеточной трансформации *in vitro,* которые могут быть использованы для предварительной оценки канцерогенности [например, тест клеточной трансформации на эмбриональных клетках сирийского хомячка (SHE) и тест клеточной трансформации на клетках Balb3T3]. На момент издания настоящего стандарта руководства OECD по этим тестам не опубликовано. Дополнительная информация о системах исследования клеточной трансформации приведена в приложении D.

6.2 Стратегия исследования

Исследования канцерогенности генотоксичных материалов должны быть научно обоснованы. В большинстве случаев можно предположить канцерогенную опасность генотоксичных материалов и соответствующий риск.

При отсутствии доказательств, исключающих риск канцерогенности для негенотоксичных материалов, на канцерогенность необходимо тестировать следующие образцы:

- материалы, для которых время полной деструкции превышает 30 дней при отсутствии значительных и адекватных сведений по их воздействию на человека;
- материалы и изделия, совокупный контакт которых с внутренними средами организма и/или его полостями превышает 30 дней.

Условия, при которых тестирование канцерогенности не проводят, включают:

- материалы, о которых имеются достоверные и адекватные сведения о результатах контакта данных материалов с организмом человека;
- материалы, которые ожидаемо вызовут канцерогенез, индуцированный имплантатами (см. приложение E);
- методологические ограничения или другие обстоятельства, которые ограничивают прогностическую ценность теста.

Для определения значимости опыта использования изделия человеком оценка должна включать данные о сходстве технологии производства изделия, сходстве популяции пациентов, которые его используют, месте (органе) воздействия и данные о более низкой или сходной экспозиции. История использования изделия человеком должна быть задокументирована с указанием, имеется ли информация о неблагоприятных эффектах, особенно риска рака.

При рассмотрении актуальности проведения исследования канцерогенности, следует описать оценку риска для человека и обосновать необходимость исследования и его дизайна. Это обоснование должно учитывать неопределенную роль, которую исследования канцерогенности имплантатов играют в оценке биологической безопасности, а также значительное количество животных для тестирования.

Если согласно ISO 10993-1 хроническая токсичность и канцерогенность релевантны и тестирование признано необходимым, исследования должны проводить, по возможности, в соответствии с OECD 453.

Если согласно ISO 10993-1 только канцерогенность релевантна и тестирование признано необходимым, исследования следует проводить в соответствии с OECD 451. Для исследования медицинских изделий, как правило, достаточно одного вида животных. Выбор вида животных должен быть проведен по ISO 10993-2, обоснован и задокументирован.

6.3 Подготовка образцов

Если изучение канцерогенности необходимо как часть оценки биологической безопасности, эти исследования проводят либо с материалами, либо с определенными химическими веществами, либо с охарактеризованными экстрактами медицинских изделий.

Медицинское изделие исследуют в виде, соответствующем исходному состоянию изделия. Могут потребоваться дополнительные исследования для других состояний изделия, таких как продукты износа изделия или материалы, отвердевающие *in situ* (например, цементы, адгезивы и форполимерные смеси). Информация по изделиям, отвердевающим *in situ*, приведена в 10993-12.

Выбор исследуемого образца (материала изделия, экстрактов материала изделия или определенного химического вещества) должен быть обоснован и задокументирован.

Наивысшей дозой, используемой в экспериментах на животных, является либо максимально переносимая доза, либо максимально возможное для введения количество вещества. Эта доза должна быть выражена как множитель расчетного максимального воздействия на человека (как вес и/или площадь поверхности на килограмм).

6.4 Методы исследования

Если тестирование экстракта признано необходимым, исследования его канцерогенности проводят в соответствии с OECD 451 или OECD 453.

Исследуемые ткани должны включать соответствующие ткани из списка, приведенного в OECD 451 или OECD 453, а также место имплантации и прилегающие ткани. В отношении исследований, использующих экстракты материала изделия или определенные химические вещества, должно быть представлено письменное объяснение, почему материалы поверхности изделия не имеют риска канцерогенности. Следует рассмотреть необходимость проведения имплантационных тестов (см. приложение Е), кроме того, роль свойств поверхности при оценке риска для человека должна быть описана и задокументирована.

При имплантационных тестах для оценки канцерогенности для обеспечения достаточного запаса безопасности количество имплантируемого материала должно существенно превышать дозу для человека. Наивысшая доза будет ограничена физическими параметрами экспериментальной модели на животных. Эта доза должна быть выражена как множитель расчетного максимального воздействия на человека (как вес и/или площадь поверхности на килограмм).

Стократный фактор безопасности применяют к расчетному максимальному воздействию на человека (вес и/или площадь поверхности на килограмм), тем не менее количество вводимого вещества (доза) должно быть физиологически совместимо с моделью. Группа отрицательного контроля, как правило, получает сопоставимую форму и вид материала, используемого в клинической практике, или эталонного контрольного материала, отсутствие канцерогенного потенциала которого подтверждено документально (например, полиэтилен). Если допустимо, то имплантат соответствующей формы в соответствии с ISO 10993-6 должен быть сделан из исследуемого(ых) материала(ов) с надлежащим рассмотрением возможности канцерогенности, индуцированной инородным телом (см. [33]).

Пример исследуемого образца — Полимер

Условия воздействия: чаще всего пациента подвергают воздействию максимум 11 г полимера в изделии.

Доза для человека: 0,19 г/кг (основываясь на среднем весе женщины — 58 кг). Если изделие применяется для детей, рекомендуется учитывать вес тела — 10 кг. Учитывая стократный фактор безопасности, доза для мыши равняется 19 г/кг. Таким образом, мышь весом 25 г получит 0,475 г.

Полимер можно исследовать в форме диска. Рекомендуется, чтобы диск был примерно 15 мм в диаметре и от 2 до 3 мм толщиной. Тем не менее для материалов с высокой плотностью эти параметры должны быть уменьшены во избежание повреждения тканей, связанного с весом образца. Можно имплантировать несколько образцов для достижения необходимой дозы. Так, в вышеприведенном примере каждая мышь получит два имплантата в форме диска, содержащих по 0,2 г полимера каждый. Исследуемые после имплантации образцы ткани должны включать ткани из списка, приведенного в OECD 451 или OECD 453, а также ткани в месте имплантации и прилегающие ткани.

В последнее время для тестирования канцерогенности расширяется использование трансгенных животных, но эти тесты не валидизированы для медицинских изделий. Оценка канцерогенности в трансгенных моделях, ограниченных по длительности (в пределах 6 мес), требует меньшего количества животных, чем у двухлетних моделей. В дополнение к более короткой длительности эксперимента эти исследования также дополнительно не осложняются феноменом образования опухолей, индуцированных инородным телом. Так как исследования на трансгенных животных длятся только 6 мес, а для развития опухолей, индуцированных инородным телом, требуется от 8 до 9 мес, то данный феномен не считают искажающим фактором. Мыши rasH2 являются основной трансгенной моделью, используемой для оценки канцерогенного риска медицинских изделий. В связи с ограниченными доступными данными и отсутствием официальных валидизированных исследований на трансгенных мышах rasH2 дизайн исследования на данной модели часто включает как отрицательный, так и положительный контроли.

7 Тесты для оценки токсического воздействия на репродуктивную функцию и развитие потомства

7.1 Общие положения

До принятия решения о проведении исследований токсического воздействия на развитие и репродуктивную функцию следует учитывать требования ISO 10993-1. Решение о проведении исследования должно быть принято на основании оценки репродуктивного статуса данной популяции и потенциала воздействия исследуемого материала или вымываемых веществ на репродуктивные ткани, эмбрион/плод или вскармливаемого младенца.

Отсутствует необходимость исследования репродуктивной токсичности для биодеградируемых медицинских изделий или медицинских изделий, содержащих вымываемые компоненты, в случае существования адекватных и обнадеживающих данных по абсорбции, метаболизму, распределению в организме и выведению, демонстрирующих отсутствие воздействия на соответствующие ткани, или данных по репродуктивной и онтогенетической токсичности. Также не актуально проведение исследования репродуктивной и онтогенетической токсичности, если оценка допустимого биологического риска медицинского изделия учитывает, что токсическое воздействие на развитие и репродуктивную функцию исключено.

7.2 Стратегия исследования

Исследования воздействия на развитие и репродуктивную функцию следует рассмотреть для следующих изделий:

- длительного или постоянного контакта с возможным прямым контактом материалов или продуктов деградации или вымываемых веществ с репродуктивными тканями, эмбрионом/плодом или половыми клетками;
- накапливающих энергию.

При определении необходимости изучения репродуктивной токсичности изделия оценка риска должна включать рассмотрение следующих факторов:

- степень системного воздействия вымываемых соединений (если изделие не контактирует напрямую с репродуктивной тканью);
- физические характеристики изделия;
- метаболиты материала изделия;
- результаты исследования генотоксичности.

Тестирование показано при необъективной информации по одному или более факторам, перечисленным выше, и этот риск не может быть снижен посредством других мер контроля риска (например, информации об отсутствии данных по репродуктивной токсичности). Тестирование должно быть проведено для готового изделия или тестового материала. Использование конкретного тестового материала, а не готового изделия, должно быть обосновано и задокументировано. При необходимости тестирования следует начинать с OECD 421 для получения первичной информации о возможном влиянии на репродуктивную функцию и/или развитие. Положительные результаты этих тестов полезны для первичной оценки опасности и помогают при принятии решения о необходимости и времени дополнительных тестов. Если дополнительные исследования необходимы, то их проводят в соответствии с OECD 414, OECD 415 или OECD 416 в зависимости от текущей ситуации. Возможно, начать с надлежащих систем исследования, которые четко продемонстрируют отсутствие или наличие репродуктивной токсичности по OECD 414, OECD 415 или OECD 416.

7.3 Подготовка образцов

Приготовление проб проводят в соответствии с ISO 10993-12. По возможности, исследованию подвергают изделие в готовой для применения форме. Возможно, потребуется исследование для дополнительных состояний изделия, таких как изделия или материалы, отвердевающие *in situ* (например, цементы, адгезивы и форполимерные смеси). В случае исследования изделий, содержащих энергию, все тело животных подвергают облучению, при этом доза облучения репродуктивных органов должна быть увеличена в несколько раз по сравнению с прогнозируемой при применении на человеке.

Наибольшая доза, используемая на животных моделях, является либо максимально переносимой дозой, либо обусловлена физическими ограничениями экспериментального животного. Эта доза долж-

на в несколько раз превышать максимальную прогнозируемую при применении на человеке (по массе и/или площади поверхности дозы на килограмм).

Тестирование *in vivo* проводят в соответствии с ISO 10993-2.

7.4 Методы исследования

Оценка эффекта на первом поколении (F1) и даже на втором поколении (F2) должна быть проведена в соответствии с OECD 414, OECD 415 или OECD 416 и OECD 421. Поскольку руководство OECD не было рассчитано на медицинские изделия, необходимо учитывать следующие изменения:

- доза (в случае изделий, накапливающих энергию);
- способ применения (имплантация, парентеральное, другое);
- экстрагирующая среда;
- время воздействия (повышенный уровень химических веществ в крови во время органогенеза, при возможности).

Примечание — В зависимости от предполагаемого использования на человеке и характеристик материала могут потребоваться пери-/постнатальные исследования.

Если информация, полученная в результате других исследований, указывает на наличие потенциального воздействия на мужскую репродуктивную систему, следует проводить соответствующие исследования токсического воздействия на мужскую репродуктивную систему.

В последнее время для оценки влияния на репродуктивную функцию разработаны тест-системы *in vitro*. Они могут быть полезны в качестве предварительных испытаний при изучении токсического действия на репродуктивность и развитие.

8 Отчет об исследовании

Отчет об исследовании должен включать в себя следующие данные, если это целесообразно:

a) описание материала и/или медицинского изделия, включая предполагаемое применение (например, химический состав, обработка, кондиционное состояние и обработка поверхности);

b) описание и обоснование методов исследования, условий исследования, материалов исследования, исследуемой дозы и процедур исследования;

c) описание аналитических методов, включая пределы измерения;

d) заявление о соответствии требованиям надлежащих действующих/утвержденных норм лабораторной практики, например надлежащей лабораторной практики (GLP) или ISO/IEC 17025;

e) результаты исследований, включая краткое изложение;

f) статистические методы;

g) интерпретацию и обсуждение результатов;

h) другие детали согласно указаниям соответствующего OECD или приложений C, D и ISO/TR 10993-33;

i) название и номер сертификационного удостоверения исследующей лаборатории;

j) дату исследования;

k) имя и подпись ответственного лица.

Приложение А
(справочное)

Руководство по выбору приемлемой процедуры подготовки образцов при исследовании генотоксичности

А.1 Общие положения

Данное положение дает указания по выбору подходящей/приемлемой процедуры приготовления проб при изучении генотоксичности медицинских изделий. При выборе метода пользователь/исследователь должен учитывать физико-химические свойства материала медицинского изделия и технологию производства медицинского изделия. Например, многие полимеры в медицинских изделиях содержат, в дополнение к относительно инертным высокомолекулярным полимерам, другие компоненты, такие как остаточные мономеры, олигомеры, катализаторы, технологические добавки и т. д. Подобные компоненты присутствуют в различных количествах в зависимости от источников сырья, процессов производства и предназначенной функции примесей. Также дополнительные виды химических веществ могут вырабатывать при таких производственных процессах, как горячая закупорка, сварка или стерилизация изделия. Все перечисленное может мигрировать из изделия в организм человека и является предметом оценки риска.

Информация, связанная с анализом биологического риска, может быть представлена в научных источниках или получена от производителя(ей) или поставщика(ов). Если информация по качественным и количественным характеристикам готового изделия или факсимиле представлена в достаточном объеме, включая материалы и технологические добавки, используемые при производстве изделия, то не проводят исследование.

При оценке достаточности доступной информации пользователь/исследователь должен включить в свой анализ следующее:

- Эквивалентен ли процесс производства готового изделия (включая стерилизацию, если применимо)?
- Содержит ли изделие те же примеси и контаминанты (такие как технологические добавки, не прореагировавшие мономеры, катализаторы)?

Для проведения оценки риска в соответствии с ISO 14971 процедура анализа риска должна включать следующие три этапа:

- характеристика материала/изделия;
- идентификация опасности;
- оценка риска.

Однако если объем необходимой информации не достаточен, исследования должны быть проведены. Биологические методы исследования, включая процедуру пробоподготовки, должны быть спланированы с учетом целей определения биологических опасностей и оценки риска.

Выбор надлежащего приготовления проб критичен для получения значимых результатов исследований генотоксичности. Ненадлежащее приготовление проб может приводить к недооценке риска генотоксичности. Например, экстракция полимеров водой ранее общепринято считалась имитацией миграции продуктов выщелачивания *in situ* из полимеров в кровь. Тем не менее Цуджи и соавторы [76] продемонстрировали, что диэтилгексилфталат (DEHP) не экстрагировался из поливинилхлоридных трубок кровепроводящей магистрали при использовании воды в качестве экстрагирующего растворителя. Они продемонстрировали, что плазма человека экстрагировала значительные количества DEHP, а процент DEHP, экстрагируемый плазмой человека, сходен с наблюдаемым при экстракции 40 %-ным этанолом. Основываясь на этом исследовании, Обэ и соавторы [77] смогли воспроизвести поражение глаз, встречающееся у пациентов, получавших диализ с использованием конкретного ацетатного диализатора, путем введения кроликам экстрактов, полученных с помощью 40 %-ного этанола.

А.2 Материалы изделия

А.2.1 Низкомолекулярные химические вещества (LMWC)

LMWC, неполимерные вещества, содержащиеся в медицинских изделиях, могут проникать через клеточные мембраны, реагируя с ДНК, генами или хромосомами, что может приводить к генотоксичным реакциям (например, цианакрилатный клей) (см. А.2.2.1).

А.2.2 Полимеры (включая полимеры природного происхождения)

Полимер является химическим веществом, состоящим из молекул, отличающихся последовательностью одного или более типов звеньев мономера и составляющих простое весовое большинство молекул, содержащих по меньшей мере три мономерных звена. Эти звенья ковалентно связаны как минимум с одним из таких же мономерным звеном или другим химическим соединением и состоят из менее чем просто весового большинства молекул той же молекулярной массы. Такие молекулы должны быть ранжированы по молекулярной массе, которые отличаются в основном по количеству мономерных звеньев. Распространенными типами полимеров являются: биостабильные синтетические полимеры (в частности, полиэтилен, полиметилметакрилат, силикон); полимеры

природного происхождения (такие как целлюлоза, альгинат, желатин, коллаген) и биодеградируемые полимеры [например, поли-L-молочная кислота (PLLA), полигликолевая кислота)].

А.2.2.1 LMWC, содержащиеся в полимерах

Полимерные материалы часто содержат небольшое количество LMWC, таких как примеси, катализаторы, технологические добавки и продукты радиации. Эти LMWC могут являться потенциально генотоксичными. В случаях инвазивного контакта LMWC могут мигрировать из полимера в организм пациента. Следовательно, LMWC в полимерах должны быть оценены с точки зрения их генотоксического риска. Миграция LMWC из полимерного изделия в жидкие среды организма расценивается как феномен, сходный с миграцией LMWC из пищевого контейнера в пищу. В пищевом контейнере степень миграции выражается:

- как функция общего содержания LMWC в полимере;
- коэффициент диффузии LMWC в полимере; и
- константа равновесия распределения LMWC между полимером и пищей (см. [82]).

Таким образом, предположения и уравнения, выведенные для пищевых контейнеров, могут быть использованы для оценки риска LMWC в медицинских изделиях.

А.2.2.2 Олигомеры

Олигомером является молекула полимера, состоящая лишь из нескольких мономерных звеньев (димер, тример, тетрамер). Олигомеры могут присутствовать в полимерах и мигрировать из полимера. Олигомеры с реактивными химическими группами в своей структуре представляют возможную опасность для здоровья из-за своей потенциальной генотоксичности. Эксперты OECD на третьем совещании (1993 г.) по полимерам (см. [78]) пришли к заключению, что необходимо учитывать следующие параметры с точки зрения влияния полимеров на здоровье пациентов:

- среднюю молекулярную массу;
- содержание низкомолекулярных веществ;
- наличие реактивных функциональных групп;
- наличие биодоступных металлов, входящих в структуру полимера.

К реактивным функциональным группам относят, например, галогенангидриды, кислотные ангидриды, альдегиды, гемиацетали, метиламиды, метиламины или метилмочевины, алкоксисиланы (>C2), алилловые эфиры, сопряженные олефины, цианаты, эпоксиды, имины, незамещенные орто- или парафенольный гидроксил, боковые группы акрилатов и метакрилатов, азиридины, карбодиимиды, галосиланы, гидросиланы, гидразины, изоцианаты, изотиоцианаты, альфа- или бета-лактоны, метокси- или этоксисиланы, винилсульфоны или аналогичные соединения (см. [79]).

А.2.2.3 Биодеградируемые полимеры

Биодеградируемым полимером является полимер, который ожидаемо склонен к деструкции, резорбции или деполимеризации, включая те полимеры, которые могут значительно разрушаться после изготовления и использования, даже если они для этого не предназначены. У биодеградируемых полимеров общее количество LMWC из полимера высвобождается в организм. Большинство биодеградируемых полимеров сходно с полиэфиром и обычно не имеет реактивных функциональных групп, как указано в отчете OECD. LMWC, содержащиеся в биодеградируемом полимере или добавленные к нему, должны быть оценены на предмет их генотоксичности.

А.2.3 Неорганические материалы: продукты износа металлов, сплавов и керамики

Количество и генотоксичность ионов металла, высвобождаемых из неорганических материалов (например, нержавеющая сталь, титановый сплав, гидроксиапатит, трикальций фосфат, окись алюминия и двуокись циркония), представляют потенциальную опасность для здоровья. Например, в лимфоцитах пациента в месте имплантированного тазобедренного сустава из металла наблюдали генотоксические эффекты *in vivo*. Многие ионы металлов играют важную регулирующую роль в организме, и эта роль зависит от их химических характеристик и валентного состояния. Ионы металла связываются с белками в физиологических жидкостях (таких как кровь, лимфа и моча) и могут частично входить в разные фракции биомолекул. Ионы металла усваиваются клеткой, где они могут связываться с компонентами ядра и изменять клеточные сигналы как местно, так и системно. Таким образом, генотоксический профиль ионов металла должен быть определен и оценен насколько это возможно, основываясь на данных научной литературы.

А.3 Методы приготовления проб

А.3.1 Общие положения

Идеальной схемой приготовления проб для оценки риска генотоксичности изделия является использование общего количества экстрагируемого вещества, получаемого из цельного изделия. Тем не менее такой подход непрактичен для более крупных изделий. Для этой группы изделий экстракцию проводят для части исследуемого образца путем надлежащей процедуры приготовления проб с последующим применением в системе тестов.

Выбор способа приготовления проб для любого материала или изделия, предназначенного для использования в человеческом организме, требует структурированного подхода, который учитывает химический состав и физико-химические свойства материала или изделия. Приготовление проб должно следовать диаграмме решений на рисунке А.1. Это диаграмма процесса решений, используемого при выборе метода экстракции (методы А, В или С) для материала изделия, кроме тех случаев, когда медицинское изделие или материал медицинского изделия должны быть оценены согласно особой процедуре приготовления проб, описанной в А.4. Применяемые раство-

рители или экстрагирующие растворители не должны вызывать химическую реакцию с исследуемым образцом. При использовании метода А требуется прямое применение исследуемого образца в системе исследования. Данный метод используется, когда исследуемый образец может быть растворен или суспензирован в надлежащем растворителе, совместимом с системой исследования. Если исследуемый образец не может быть растворен или суспензирован в полярном или неполярном растворителе, избирают методы экстрагирования В и С, основываясь на физических характеристиках материалов, из которых состоит изделие. Выбор методов В или С зависит от процента экстрагируемых веществ, выделяемых исследуемым образцом.

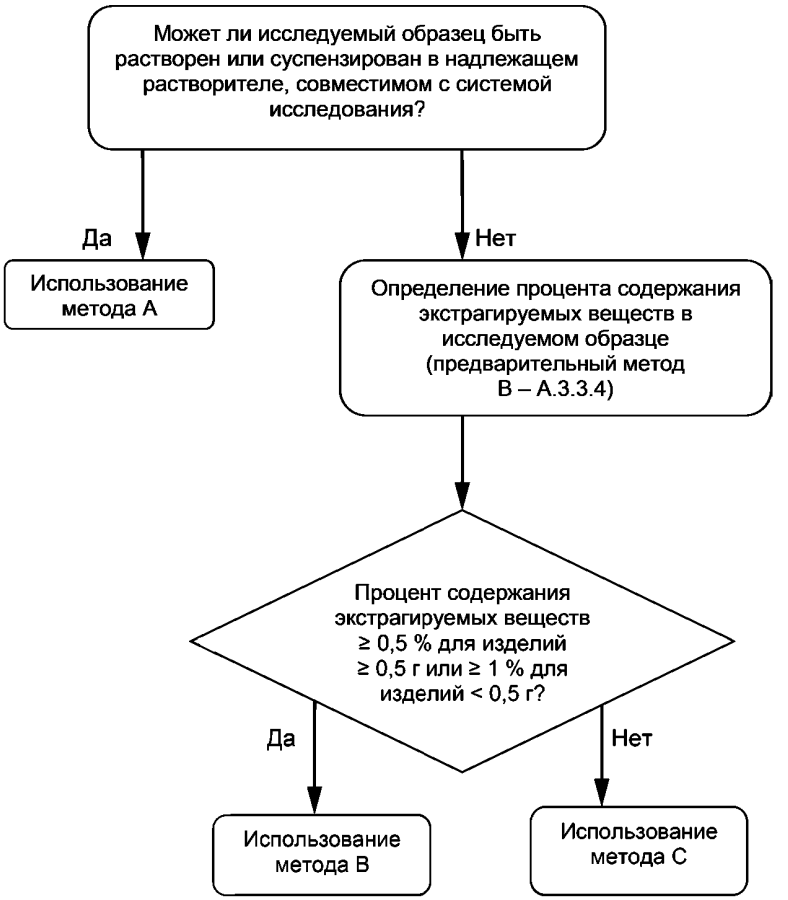


Рисунок А.1 — Структурированный подход к выбору процедуры приготовления проб

Следует отметить процент содержания экстрагируемых веществ (выраженный как процент количества осадка по сравнению с общим весом изделия, см. А.3.3.4) для каждого растворителя. Распространенными экстрагирующими растворителями являются метанол и ацетон.

Метанол лучше подходит для экстракции водорастворимых веществ, а ацетон — жирорастворимых веществ. Экстракты метанола и ацетона выпаривают отдельно до сухости для определения процентного содержания экстрагируемых веществ, полученных из системы исследования каждым растворителем. Процент содержания экстрагируемых веществ с каждым растворителем должен быть записан.

В предварительных исследованиях могут быть использованы дополнительные растворители для материалов при наличии надлежащего обоснования. Летучие растворители могут разложить исследуемый материал или неэффективно экстрагировать осадок из исследуемого материала.

Таблица А.1 может быть полезна при выборе подходящего растворителя для экстракции медицинских изделий. Эта таблица приводит список распространенных экстрагирующих растворителей и их коэффициент распределения октанол-вода, log K_{ow}. Растворитель с более отрицательным log K_{ow} распределяется в воде более эффективно, чем в октаноле. Растворитель с более положительным log K_{ow} распределяется в октаноле быстрее, чем в воде. Выбор растворителя должен быть обоснован.

Таблица А.1 — Распространенные экстрагирующие растворители

Растворитель	log K_{ow}
Диметилформамид	− 1,01
Метанол	− 0,74
Этанол	− 0,30
Ацетон/2-пропанон	− 0,24
Дихлорметан[a)]	+ 1,25
Хлороформ[a)]	+ 1,97
Гексан[a)]	+ 3,90
[a)] Эти химические вещества могут быть предметом контроля для рассмотрения вопросов безопасности.	

А.3.2 Метод А

Исследуемый образец растворен либо суспензирован (или частично растворен) в растворителе. Окончательный объем приготовления исследуемого образца в системе исследования млекопитающих *in vitro* не должен превышать 10 %, если исследуемый образец растворен в водном растворителе, таком как вода или раствор хлорида натрия. Максимальная концентрация, тестируемая *in vitro* в тест-системе на клетках млекопитающих, составляет 5 мг/мл. В тесте оценки обратных мутаций на бактериях 100 мкл исследуемого образца наносят на чашку с агаром. Максимальная концентрация для испытания в тесте оценки обратных мутаций на бактериях составляет 5 мг на чашку.

Выбор дозы должен быть основан на профиле токсичности в контексте теста на генотоксичность. В некоторых случаях предварительное ранжирование доз может быть полезным для выбора надлежащей дозы. Также возможно использование единственной дозы, если токсичность не ожидается (см. инструкцию по оценке дозы в каждом тесте в ISO/TR 10993-33). В исследованиях *in vivo* максимальный объем исследуемого образца, который может быть введен при однократной инъекции, обычно составляет 20 мл/кг массы тела для мышей и 10 мл/кг для крыс. Для приготовлений нетоксичных исследуемых образцов максимальная доза составляет 2000 мг/кг массы тела. Для подготовки токсичных исследуемых образцов необходимо проводить предварительное исследование для определения диапазона доз *in vivo*, которые можно использовать в основном исследовании.

Если применимо, можно использовать данные исследований острой токсичности в целях сохранения здоровья животных. Пользователи должны руководствоваться ISO/TR 10993-33 для получения детальной информации. Принципы, изложенные в [107], могут применять в качестве руководства по растворам высшей дозы.

А.3.3 Метод В

А.3.3.1 Общие положения

Для выбора методов подготовки проб В или С необходимо проводить предварительное тестирование в соответствии с процедурой подготовки исследуемого образца (см. А.3.3.2) и экстракции (см. А.3.3.3).

Метод В выбирают, если процентное содержание экстрагируемых веществ, полученное в предварительном исследовании, отвечает следующим критериям:

a) для изделий массой < 0,5 г, таких как контактные или интраокулярные линзы, необходимо использовать метод В, если процентное содержание экстрагируемых веществ в исследуемом образце ≥ 1 %;

b) для изделий массой ≥ 0,5 г необходимо использовать метод В, если процентное содержание экстрагируемых веществ в исследуемом образце ≥ 0,5 %.

Если процентное содержание экстрагируемых веществ не отвечает критериям, приведенным выше, экстракт должен быть приготовлен, используя метод С.

А.3.3.2 Приготовление исследуемого образца

Исследуемый образец погружают в летучую органическую экстрагирующую среду, которая экстрагирует остаточные вещества из исследуемого образца, но не растворяет исследуемый образец. Если внешний вид или вес исследуемого образца подтверждает частичное разложение, следует использовать метод С. Исследуют два или более растворителя, чтобы определить, какой растворитель экстрагирует наивысшее процентное содержание экстрагируемых веществ из исследуемого образца (см. А.3.3.3 и А.3.3.4). Распространенными экстрагирующими растворителями являются метанол и ацетон. Экстрагированный выпаренный осадок исследуемого образца растворяют или суспензируют в растворителе, совместимом с тест-системой оценки генотоксичности. Окончательный объем органического или водного растворителя в культуре не должен превышать 1 % (органический) и 10 % (водный) в тесте оценки хромосомных аберраций или в тесте лимфомы мышей. В мутационном тесте на бактериях необходимо наносить 100 мл остаточного раствора/суспензии на чашку с агаром. Максимальная исследуемая концентрация в тесте оценки хромосомных аберраций *in vitro* или в тесте лимфомы мышей *in vitro* составляет 5 мг/мл. Максимальная концентрация в тесте оценки обратных мутаций на бактериях составляет 5 мг на чашку. Процедура экстракции образца приведена в А.3.3.3 (см. [86]).

Для теста *in vivo* экстрагированный и выпаренный осадок исследуемого образца растворяют или суспензируют в растворителях, совместимых с тест-системой. Выбор наивысшей дозы и способа введения такой же, как и в методе А.

Принципы, изложенные в [107], могут быть использованы в качестве руководства по растворам высшей дозы.

А.3.3.3 Процедура

Измельчают нужное количество исследуемого образца на маленькие кусочки и помещают их в стеклянный контейнер вместе с экстрагирующей средой. Необходимо использовать пропорцию в 1 г к 10 мл или достаточный объем для погружения исследуемого образца. Если исследуемый образец невозможно разрезать, используют достаточный объем для покрытия исследуемого образца, предпочтительно пропорцию в 1 г к 10 мл.

Примечание — Подробности по экстракции абсорбирующих материалов содержатся в ISO 10993-12.

Экстрагируют исследуемый образец в течение (24 ± 2) ч при комнатной температуре с постоянным взбалтыванием.

После экстракции фильтруют экстракты через химически стойкий фильтр с низким связыванием для удаления исследуемого образца.

Выливают экстракт в грушевидную колбу с известной постоянной массой m_1 и выпаривают экстрагирующий растворитель в экстракте до сухости или до постоянного веса при помощи концентрационной установки пониженного давления при температуре ≤ 30 °С. Определяют массу колбы после выпаривания m_2.

Вычисляют процент экстрагированных веществ.

Часть осадка может быть использована для проверки растворимости/однородности в совместимых с тест-системой растворителях.

Нельзя нагревать ни экстракт, ни дозовые растворы во избежание химических изменений осадков или потери летучих соединений.

Примечание — Полная экстракции по методу Сокслета может быть рассмотрена как альтернативный метод.

Выпаривание экстракта после экстракции неприменимо в тех случаях, когда ожидаемый осадок в изделии является легколетучим (например, этиленоксид, низкомолекулярные акрилатные мономеры).

При приготовлении проб по методу В оба экстракта исследуемого образца, если они отвечают критериям метода В, должны использовать отдельно. Если только один экстракт исследуемого образца отвечает критериям В, только этот экстракт применим для исследования генотоксичности. Другой экстракт не используют.

Следует растворить или суспензировать осадок экстрагируемых веществ в растворителе на основе максимизации тестовой концентрации для соответствующей системы исследования. Этот растворитель может быть идентифицирован, например, используя осадок, полученный в предварительном исследовании по методу В. Используют этот раствор в течение 24 ч.

А.3.3.4 Представление результатов

Вычисляют массу остаточных веществ W_R в грушевидной колбе путем определения изменения массы колбы по формуле

$$W_R = m_2 - m_1, \quad (A.1)$$

где m_2 — масса колбы после выпаривания экстракта;

m_1 — масса колбы.

Вычисляют относительное содержание экстрагируемых веществ (в процентах) путем определения пропорции массы экстрагируемых материалов к массе исследуемого образца и умножения на 100 по формуле

$$\%_e = W_R / m_3 \cdot 100, \quad (A.2)$$

где $\%_e$ — процентное содержание экстрагируемых веществ;

m_3 — масса исследуемого образца до экстракции.

Фиксируют относительное содержание экстрагируемых веществ, %, для каждого растворителя.

Отчет об исследовании должен включать обоснование выбора экстрагирующего растворителя и относительное содержание осадка, %, для каждого исследуемого растворителя.

А.3.4 Метод С

А.3.4.1 Общие положения

Метод С является экстракционным методом, имитирующим условия использования изделия, аналогичным описанному в ISO 10993-12. Исследуемый образец экстрагируется в растворителе/среде, совместимым(ой) с тест-системой. Приготовление исследуемого образца должно соответствовать тест-системе. Используют данный экстракт в течение 24 ч.

А.3.4.2 Процедура

А.3.4.2.1 Для теста оценки обратных мутаций на бактериях исследуемый образец измельчают на маленькие кусочки, при возможности, и экстрагируют согласно ISO 10993-12.

А.3.4.2.2 Для теста *in vitro* на клетках млекопитающих исследуемый образец измельчают на маленькие кусочки, если необходимо, и экстрагируют согласно ISO 10993-12.

А.3.4.2.3 Если в качестве полярного растворителя для экстракции используют культуральную среду без сыворотки, исследуемый экстракт тестируют неразбавленным после добавления сыворотки и перед добавлением определенного количества клеток. Исследуемый экстракт в клеточной культуральной среде с сывороткой (как неполярный растворитель) тестируют как неразбавленный экстракт. Если в качестве полярного растворителя для экстракции используют раствор хлорида натрия, исследуемый экстракт должен быть разведен до 10 % клеточной культуральной средой, обогащенной сывороткой, перед дозированием клеток. Исследуемый экстракт диметилсульфоксида или этанола необходимо исследовать как однопроцентный после разведения клеточной культуральной средой, обогащенной сывороткой. Для цитотоксичных исследуемых экстрактов следует рассмотреть приемлемый предел цитотоксичности для проб при выборе адекватной дозы исследуемого экстракта.

Примечание 1 — Температура (37 ± 1) °С в течение (48 ± 2) ч также может быть приемлемой, если для экстракции использована клеточная культуральная среда с сывороткой или без нее.

А.3.4.2.4 Для исследования *in vivo* исследуемый образец рубят на маленькие кусочки, при возможности, и экстрагируют согласно указаниям настоящего стандарта.

А.3.4.2.5 Исследуемый экстракт вводят животным внутривенно (раствор хлорида натрия) или интраперитонеально (гидрофобный) в зависимости от используемого растворителя. Объем не должен превышать 20 мл/кг массы тела для мышей и 10 мл/кг для крыс.

А.4 Дополнительное руководство по специальным процедурам приготовления проб

А.4.1 Биодеградируемые полимеры

Для изделий, сделанных из биодеградируемых полимеров, можно использовать модифицированный метод В для приготовления исследуемого материала, так как существует возможность высвобождения всего количества LMWC в организм пациента. С помощью растворителей, подходящих для растворения и переосаждения, фильтруют полученный раствор для удаления отложений. Фиксируют данные о любом осадке на фильтровальной бумаге после фильтрации. Выпаривают растворители из фильтрата (например, можно использовать ротационный испаритель). Записывают количество образовавшегося осадка. Растворяют или суспензируют осадок в растворителе/среде, совместимыми с тест-системой, и используют для тестирования.

А.4.2 Неорганические материалы: продукты износа металлов, сплавов и керамики

При оценке генотоксичности изделий из неорганических материалов, таких как протезы тазобедренного сустава, основным вопросом является генотоксический потенциал ионов металла, выделяемых продуктами износа и/или коррозией в течение клинического воздействия, и их количество. Так как тесты в настоящем стандарте предназначены для измерения генотоксичного потенциала экстрактов готового изделия (в растворе), а не его частиц, потребуются альтернативные подходы к оценке генотоксичности продуктов износа или частиц.

А.4.3 LMWC

Когда исследуемый образец состоит из единственного или множественных LMWC, риск генотоксичности может быть оценен путем применения его раствора/суспензии в среде, совместимой с тест-системой. Применим метод А.

Приложение В
(справочное)

Блок-схема для последующей оценки полученных результатов

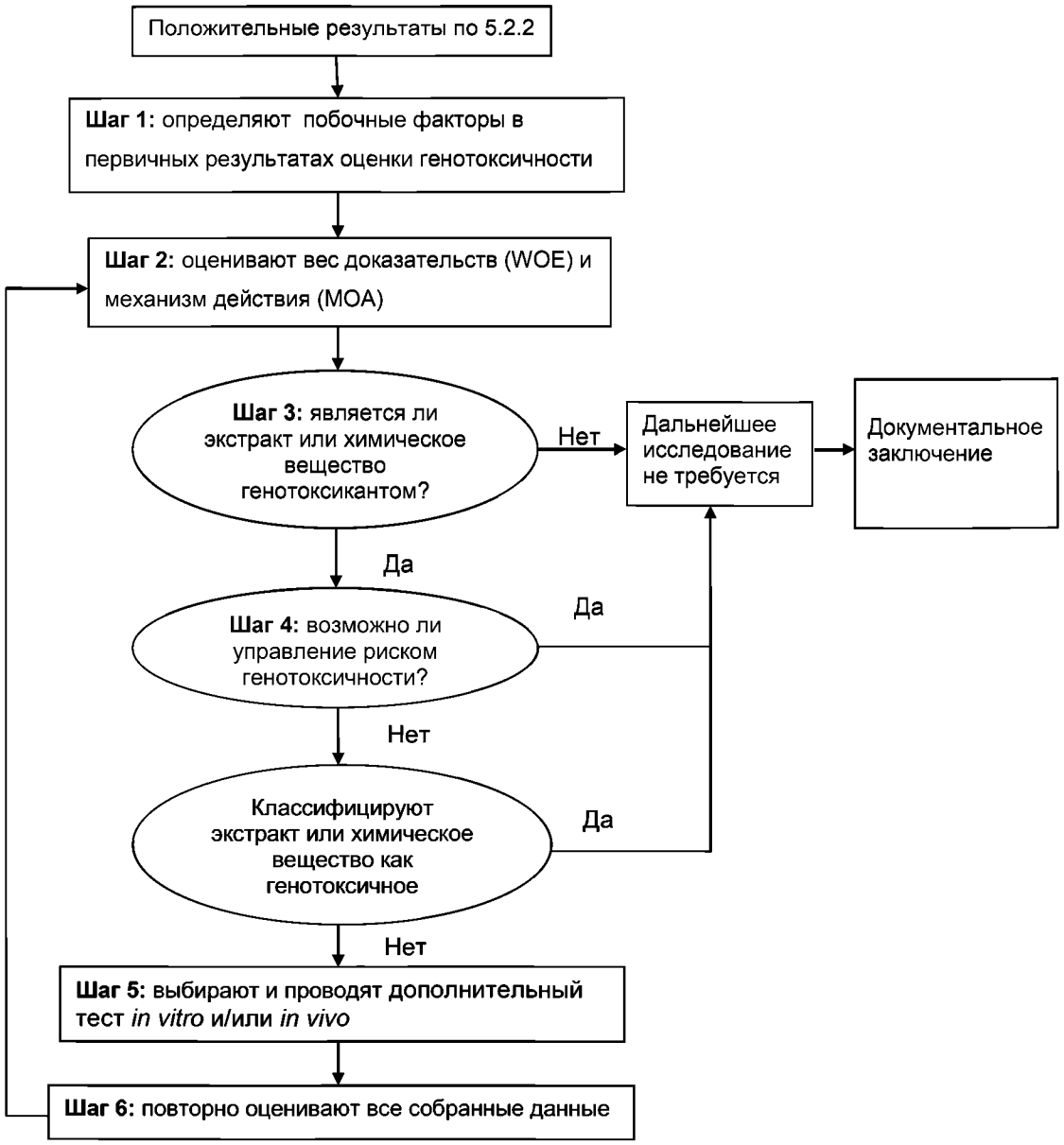


Рисунок В.1 — Блок-схема для последующих полученных результатов

Приложение С
(справочное)

Обоснование тест-системы

С.1 Тесты на генотоксичность

Основная функция тестирования генотоксичности — это изучение с использованием тестируемых клеток и организмов потенциала изделий к индукции генетических изменений в эмбриональных и соматических клетках. Научные данные обычно подтверждают гипотезу, что повреждение ДНК соматических клеток является критическим событием в инициации рака. Таким образом, некоторые тесты на оценку повреждений ДНК полезны для изучения предполагаемой канцерогенности. Если в классических исследованиях токсичности можно наблюдать несколько подходящих параметров или показателей в рамках одного эксперимента, этого не происходит в генетической токсикологии. Разнообразие генетических показателей чаще всего препятствует обнаружению более чем одного из них в рамках одной тест-системы.

В руководстве по тестированию собрано примерно 15 различных тестов. Выбор наиболее подходящего из них для соответствия определенному требованию зависит от нескольких факторов. Они включают тип генетических изменений и тесты, необходимые для их определения, или метаболические возможности тест-системы. Следует подчеркнуть, что не существует международного соглашения о лучшей комбинации тестов для определенной цели, хотя сделаны попытки по гармонизации выбора наиболее подходящих тестов. Также полезно отметить, что в использовании или разработках существуют другие тесты по оценке мутагенности, которые, несмотря на отсутствие руководства OECD, также могут быть полезны. Следует принять во внимание существование договора ICH/S2B по фармацевтическим препаратам.

Химикаты, взаимодействующие с ДНК, вызывают повреждения ткани, которые под влиянием различных процессов репарации могут приводить к изменениям на генном уровне, например: генным или точечным мутациям, малым делециям, митотическим рекомбинациям или различным хромосомным изменениям, видимым на микроскопическом уровне, и существуют тесты для исследования каждого из этих явлений. Существующие краткосрочные исследования, разумеется, не могут имитировать все стадии канцерогенного процесса и часто предполагают только обнаружение момента, ведущего к стадии инициации, т. е. способности индуцировать мутагенные или кластогенные повреждения. Таким образом, основная ценность данных исследований — это способность определять вещества, которые могут при определенных условиях воздействия либо вызвать рак путем преимущественно механизма генотоксичности, либо индуцировать первичную фазу канцерогенного процесса. Очевидно, что в связи со сложностью канцерогенного процесса по сравнению с относительной простотой краткосрочных исследований несмотря на предоставляемую полезную качественную информацию заключения в отношении канцерогенной активности необходимо делать со значительной осторожностью.

Так как ни одно исследование не способно определить мутагены и канцерогены в организме млекопитающих с допустимым уровнем точности и воспроизводимости, стандартной научной практикой является применение этих тестов в батареях. Первичная информация по мутагенности вещества может быть получена с помощью тестов, определяющих генные мутации и хромосомные повреждения. Так как отдельные процедуры требуются для исследования показателей, необходима система тестов.

Если существует дополнительная значимая информация, такая как абсорбция, распределение, метаболизм и выведение (ADME), которая указывает на наличие экстрактов в конкретных органах, нужно рассмотреть проведение тестов оценки генотоксичности *in vivo*. Выбор конкретного теста *in vivo* будет зависеть от мест накопления экстрактов. Во многих случаях приемлемым является тест оценки хромосомных повреждений гемопоэтических клеток грызунов *in vivo*. В некоторых случаях могут потребоваться тесты для исследования конкретных органов или конкретных показателей. В большинстве случаев эти исследования не имеют международных признанных протоколов. Для большинства медицинских изделий и/или материалов, для которых исследование на генотоксичность считается необходимым, стандартная батарея тестов *in vitro* является достаточной для предоставления доказательств генотоксического действия исследуемого образца.

С.2 Тесты на канцерогенность

Целью долгосрочного исследования канцерогенности является наблюдение экспериментальных животных в течение большей части их жизни на предмет развития неопластических повреждений ткани во время или после воздействия различных доз исследуемого образца при подходящем способе воздействия. Такое исследование требует тщательного планирования и документации плана исследования (см. приложение Е), высокого качества оценки патологии и объективного статистического анализа.

С.3 Тесты для оценки токсического воздействия на репродуктивную функцию и развитие

Исследования токсического воздействия на репродуктивную функцию охватывают аспекты размножения, фертильности и развитие эмбриона/плода. Фертильность может быть затронута и у мужчин, и у женщин с резуль-

татами от немного сниженной репродуктивной способности до полной стерильности. Токсическое воздействие на развивающийся эмбрион или плод может повлиять на здоровье потомства.

Тератогенность вызвана с негативным влиянием вещества на развивающийся эмбрион и плод. Репродуктивная токсичность очень важна, так как определяет здоровье человечества. Разрабатываются тесты исследований, и концепция комбинированных тестов, охватывающих все аспекты репродуктивной токсикологии, является многообещающей.

Приложение D
(справочное)

Тест-системы для оценки клеточной трансформации

Экспериментальные модели *in vivo* на грызунах применяют для исследований канцерогенного риска химических веществ для человека. Тем не менее проба канцерогенности на грызунах является дорогостоящей и затратной по времени. В противовес методам на животных разработаны несколько альтернатив *in vitro*. Из числа этих методов исследования для прогнозирования канцерогенного потенциала химических веществ предложены методы оценки клеточной трансформации, имитирующие некоторые стадии многоэтапного канцерогенеза *in vivo*.

По сравнению с пробами на основе *in vivo*, исследования клеточной трансформации *in vitro* являются краткосрочными, экономически эффективными и предоставляют способ предварительного скрининга канцерогенного потенциала. Клеточная трансформация определяется как индукция конкретных фенотипических изменений в культивированных клетках, которые являются характеристиками канцерогенных клеток. Эти фенотипические изменения могут быть вызваны воздействием канцерогенов на клетки млекопитающих. Трансформированные клетки, приобретая характеристики недоброкачественных клеток, могут провоцировать развитие опухолей в подверженных риску животных. Клетки, трансформированные *in vitro*, демонстрируют морфологические изменения, связанные с неоплазией. Этот феномен морфологической клеточной трансформации включает изменения в поведении и контроле роста культивированных клеток, таких как изменения в клеточной морфологии, хаотичная схема роста колоний и появление незакрепленных новообразований.

Метод клеточной трансформации эмбриона сирийского хомячка (SHE) описан как самое точное краткосрочное исследование на канцерогены в грызунах. Шехтман (см. [34]) описывает, как изменилась со временем методология исследования клеточной трансформации в грызунах, которая трансформировалась в клеточный метод SHE, являющийся более воспроизводимым в отличие от ранних методов. Исследование клеточной трансформации способны также обнаруживать некоторые негенотоксичные канцерогены, что является особенным преимуществом по сравнению с пробами генотоксичности. Тем не менее пробы клеточной трансформации технически сложные и не вполне понятные с механической точки зрения.

Также двухэтапная проба клеточной трансформации в клетках Balb/c 3T3 или в клетках SHE может быть потенциально полезной не только для обнаружения соединений, вызывающих клеточную трансформацию, но и для активаторов опухолей. Продемонстрировано, что морфологическая клеточная трансформация возникает в результате точечной мутации, хромосомных повреждений, анеуплоидии и других эффектов, связанных с клеточной пролиферацией. Тем не менее из-за широкого диапазона механизмов, посредством которых могут действовать не генотоксичные канцерогены, и особенно потому, что некоторые эффекты специфичны для конкретных тканей, мало вероятно, что комбинация данной пробы и пробы на анеугенные агенты будет достаточной для обнаружения всех типов негенотоксичных канцерогенов. Таким образом, для увеличения диапазона негенотоксичных канцерогенов, обнаруживаемых *in vitro,* следует разработать батарею проб, включающих обнаружение основных конечных точек, посредством которых действуют эти агенты.

Руководство и обзор исследования клеточной трансформации *in vitro* приведены в [13] и [14].

Приложение Е
(обязательное)

Исследование канцерогенности с использованием имплантационного теста

Е.1 Канцерогенез, индуцированный имплантатами

Опухоли, вызванные имплантатами, широко известны по экспериментам на крысах. Этот феномен назван «канцерогенез инородным телом» и описан следующим образом.

Опухоли чаще всего развиваются вокруг или рядом с имплантатом с частотой, зависящей от нескольких факторов:

- размеров имплантата (большие имплантаты, как правило, вызывают больше сарком, чем маленькие);
- формы имплантата;
- гладкости имплантата (неровные поверхности менее канцерогенны, чем ровные);
- целостности площади поверхности (чем больше отверстия или поры имплантата, тем меньше случаев опухоли);
- плотности для определенных материалов (более плотные имплантаты вызывают больше сарком);
- продолжительности времени нахождения имплантата в ткани.

Материал, вызывающий опухоли, находясь в форме пленки или листа, в основном, вызовет меньшее число опухолей или не вызовет их вообще, если его имплантировать в форме пудры, нити или пористого материала (см. [37] и [38]). Вследствие этого феномена опухоли начинают обнаруживать спустя 8-9 мес после имплантации. Частота случаев продолжает повышаться после этого латентного периода. С другой стороны, многие отчеты указывают на разницу в распределении образования опухолей при использовании различных материалов одной формы и размера с единым протоколом экспериментальных животных. Понимание механизма обобщено в монографии IARC (см. [36]—[38]).

Е.2 Учет состояния животных

Проведение исследований на канцерогенность требует хирургических инвазивных процедур на большом количестве как исследуемых, так и контрольных (ложнооперированных) животных.

Приложение F
(справочное)

Тесты *in vitro* для оценки эмбриотоксичности

В области онтогенетической токсичности существуют разнообразные альтернативы исследованиям на интактном животном. За последние 30 лет разработан широкий спектр испытаний *in vitro* с использованием как клеточных, тканевых и органных культур, так и цельных эмбриональных культур. Следуя рекомендациям рабочего семинара ECVAM по репродуктивной токсичности (см. [87]), ECVAM инициировал и спонсировал валидационное исследование трех тестов оценки эмбриотоксичности *in vitro*. В двух из этих тестов использованы беременные лабораторные животные для получения эмбриональной ткани: либо первичные эмбриональные клетки из микромассы мыши (ММ-тест) (см. [88]), либо эмбрионы крысы в тесте эмбриональной культуры (WEC-тест) (см. [89]—[92]).

В третьем тесте на эмбриональных стволовых клетках, (см. [92]—[95]) использована перманентная линия эмбриональных стволовых клеток мыши (EST-тест). Главной целью валидизации была оценка результативности трех методов *in vitro* по способности разделять соединения на не эмбриотоксичные, слабо эмбриотоксичные и сильно эмбриотоксичные. Доказано, что все три теста на эмбриотоксичность *in vitro* применимы к исследованиям разнообразных химических веществ с различным эмбриотоксичным потенциалом (см. [96]). Результаты, полученные при слепом исследовании на определяющей фазе валидационного исследования ECVAM, воспроизводимы как в рамках каждой лаборатории, так и в межлабораторных испытаниях. Конкордантность *in vitro* и *in vivo* была хорошей для ES- и WEC-тестов [с одной моделью прогнозируемости (ПМ)] и достаточной для ММ- и WEC-тестов (с другой ПМ) в соответствии с критериями (см. таблицу F.1), определенными командой менеджмента до начала проведения валидационного исследования (см. [96]). Сравнение классификаций *in vitro* и *in vivo,* основанных на валидационном исследовании 14 химических веществ, приведено в таблице F.2. Также опубликованы заключительный отчет по результатам валидационного исследования ECVAM, отчет по выбору химических веществ для исследования и три подробных исследования с биостатистикой для каждого из трех тестов оценки эмбриотоксичности *in vitro* в рамках валидационного исследования (см. [96]—[100]).

В Научном консультативном комитете ECVAM (ESAC) по итогам проведенных исследований пришли к выводу о том, что три теста на эмбриотоксичность *in vitro* были в достаточной степени валидизированы и могут быть применены при оценке эмбриотоксичного потенциала лекарств и других химических веществ (см. [101]). ESAC рекомендовал создание рабочей группы для разработки руководства по применению трех научно-оцененных методов испытаний в контексте исследования репродуктивной токсичности. Таким образом, ECVAM и ZEBET (Центр документации и оценки альтернатив опытам на животных) провели второе рабочее совещание по эмбриотоксичности для дальнейшей оценки практического применения трех методов оценки эмбриотоксичности *in vitro*. Результаты данного рабочего семинара опубликованы (см. [102]).

Таблица F.1 — Критерии, определенные группой менеджмента исследования, для оценки результативности испытания

Критерий	Результативность, %
Случайный	33
Обоснованный	≥ 65
Хороший	≥ 75
Отличный	≥ 85

Таблица F.2 — Обобщение результатов классификации (все данные [88])

Классификация	EST %	ММ %	WEC, %	
			PM1	PM2
Прогностическая ценность (не эмбриотоксичный)	72	57	56	70
Прогностическая ценность (слабо эмбриотоксичный)	70	71	75	76
Прогностическая ценность (сильно эмбриотоксичный)	100	100	79	100
Точность (не эмбриотоксичный)	70	80	70	80
Точность (слабо эмбриотоксичный)	83	60	45	65
Точность (сильно эмбриотоксичный)	81	69	94	100
Достоверность	78	70	68	80

Приложение ZA
(справочное)

Взаимосвязь между настоящим стандартом и основными требованиями Директивы ЕС 93/42 ЕЕС по медицинским изделиям

Настоящий стандарт подготовлен по условиям мандата, данного Европейскому комитету по стандартизации (CEN) Европейской комиссией и Европейской ассоциацией свободной торговли для обеспечения соответствия основным требованиям директивы 93/42EEC новому подходу к оценке медицинских изделий.

С момента опубликования настоящего стандарта в Официальном вестнике Европейского союза в рамках данной директивы и его внедрения в качестве национального стандарта как минимум в одном государстве-члене соответствие с положениями, приведенными в таблице ZA.1, налагает в рамках настоящего стандарта презумпцию соответствия с основными требованиями этой директивы, а также с правилами Европейской ассоциации свободной торговли (EFTA).

Таблица ZA.1 — Соответствие настоящего стандарта Директиве 93/42/EEC по медицинским изделиям

Основные требования (ER) Директивы 93/42/EEC	Положения/подпункты настоящего стандарта	Разъяснения/примечания
7.1 (первый и второй параграфы)	4, 5, 6 и 7	Настоящий стандарт только частично охватывает ER 7.1, так как не устанавливает требований к конструкции медицинского изделия и его производству. Настоящий стандарт предоставляет способы оценки рисков генотоксичности, канцерогенности и репродуктивной токсичности, обусловленных используемыми материалами
7.2	4, 5, 6 и 7	Настоящий стандарт не охватывает ER 7.2, так как не устанавливает требований к конструкции медицинского изделия и его производству, а также к минимизации риска. Настоящий стандарт предоставляет способы оценки генотоксичности, канцерогенности и репродуктивной токсичности. Данная оценка может быть предварительным шагом к минимизации риска. Другие формы токсичности и воспламеняемость не включены в настоящий стандарт
7.5 (первый параграф)	4, 5, 6 и 7	Настоящий стандарт не охватывает ER 7.5, так как не устанавливает требований к конструкции медицинского изделия, его производству и упаковке, а также к минимизации риска. Настоящий стандарт предоставляет способы оценки генотоксичности, канцерогенности и репродуктивной токсичности. Данная оценка может быть предварительным шагом к минимизации риска. Другие формы токсичности и воспламеняемость не включены в настоящий стандарт

Примечание — Презумпция соответствия зависит также от соответствия со всеми надлежащими положениями/подпунктами ISO 10993-1.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Другие требования и другие директивы ЕС могут быть применимы к продуктам, подпадающим под настоящий стандарт.

Приложение ZB
(справочное)

Взаимосвязь между настоящим стандартом и основными требованиями Директивы ЕС 90/385/ЕЕС по активным имплантируемым медицинским изделиям

Настоящий стандарт подготовлен по условиям мандата, данного Европейскому комитету по стандартизации (CEN) Европейской комиссией и европейской ассоциацией свободной торговли для соответствия основным требованиям Директивы 90/385 ЕЕС нового подхода по активным имплантируемым медицинским изделиям.

С момента публикации настоящего стандарта в Официальном вестнике Европейского союза в рамках данной директивы и его внедрении в качестве национального стандарта как минимум в одном государстве-члене, соответствие с положениями настоящего стандарта, приведенными в таблице ZB.1, налагает в рамках настоящего стандарта презумпцию соответствия основным требованиям директивы, а также соответствующим правилам Европейской ассоциации свободной торговли (EFTA).

Таблица ZB.1 — Соответствие настоящего стандарта Директиве 90/385/ЕЕС по активным имплантируемым медицинским изделиям

Основные требования (ER) Директивы 90/385/ЕЕС	Положения/подпункты настоящего стандарта	Разъяснения/примечания
9 (первый и второй параграфы)	4, 5, 6 и 7	Настоящий стандарт только частично охватывает ER 9, так как не устанавливает требований к конструкции медицинского изделия и его производству. Настоящий стандарт предоставляет способы оценки генотоксичности, канцерогенности и репродуктивной токсичности при производстве медицинских изделий. Другие формы токсичности не включены

Примечание — Презумпция соответствия зависит также от соответствия со всеми надлежащими положениями/подпунктами ISO 10993-1.

ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ! Другие требования и другие Директивы ЕС могут быть применимы к продуктам, подпадающим под настоящий стандарт.

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов и документов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта, документа	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 10993-1:2003	IDT	ГОСТ ISO 10993-1—2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования»
ISO 10993-2:2006	IDT	ГОСТ Р ИСО 10993-2—2009 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 2.Требования к обращению с животными»
ISO 10993-6:2016	IDT	ГОСТ ISO 10993-6—2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации»
ISO 10993-12:2006	IDT	ГОСТ ISO 10993-12—2009 «Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 12. Приготовление проб и стандартные образцы»
ISO 10993-18:2005	IDT	ГОСТ ISO 10993-18—2011 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 18. Исследование химических свойств материалов»
OECD 414	IDT	ГОСТ 32380—2013 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке токсического воздействия на пренатальное развитие»
OECD 415	IDT	ГОСТ 32378—2013 Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке репродуктивной токсичности одного поколения
OECD 416	—	*
OECD 421	IDT	ГОСТ 32379—2013 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Испытания по оценке репродуктивной/эмбриональной токсичности (скрининговый метод)»
OECD 451	—	*
OECD 453	IDT	ГОСТ 32647—2014 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Комбинированные исследования хронической токсичности и канцерогенности»
OECD 473	—	*
OECD 476	IDT	ГОСТ 32638—2014 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Метод оценки генных мутаций на клетках млекопитающих *in vitro*»
OECD 487	IDT	ГОСТ 32635—2014 «Методы испытания по воздействию химической продукции на организм человека. Микроядерный тест на клетках млекопитающих *in vitro*»

Окончание таблицы ДА.1

* Соответствующий международный документ отсутствует. До его принятия рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного документа. Примечание — В настоящем стандарте использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов (документов): - IDT — идентичные стандарты.

Библиография

Библиография общая

[1] OECD 474, Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test

[2] OECD 475, Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test

[3] OECD 478, Genetic Toxicology — Rodent Dominant Lethal Test

[4] OECD 479, Genetic Toxicology — In vitro Sister Chromatid Exchange Assay in Mammalian Cells

[5] OECD 480, Genetic Toxicology — Saccharomyces cerevisiae — Gene Mutation Assay

[6] OECD 481, Genetic Toxicology — Saccharomyces cerevisiae — Miotic Recombination Assay

[7] OECD 482, Genetic Toxicology — DNA Damage and Repair, Unscheduled DNA Synthesis in Mammalian Cells In vitro

[8] OECD 483, Mammalian Spermatogonial Chromosome Aberration Test

[9] OECD 484, Genetic Toxicology — Mouse Spot Test

[10] OECD 485, Genetic Toxicology — Mouse Heritable Translocation Assay

[11] OECD 486, Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells In vivo

[12] OECD 488, Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays

[13] Official Journal of the European Communities, L 133/73, May 1988, concerning in vitro cell transformation tests

Библиография по тестам на трансгенных животных

[14] Gorelick N.J. Overview of mutation assays in transgenic mice for routine testing. Environ. Mol.Mutagen. 1995, 25 pp. 218—230

[15] Provost G.S., Rogers B.J., Dycaico M.J., Carr G. Evaluation of the transgenic Lambda/LacI mouse model as a short-term predictor of heritable risk. Mutat. Res. 1997, 388 pp. 129—136

[16] Krishna G., Urda G., Theiss J. Principles and practice of integrating genotoxicity evaluation into routine toxicology studies: a pharmaceutical industry perspective. Environ. Mol. Mutagen. 1998, 32 pp. 115—120

[17] MacGregor J.T. Transgenic animal models for mutagenesis studies: role in mutagenesis research and regulatory testing. Environ. Mol. Mutagen. 1998, 32 pp. 106—109

[18] Kohler S.W., Provost G.S., Kretz P.L., Dycaico M.I., Sorge J.A., Short J.M. Development of ashort-term in vitro mutagenesis assay: The effect of methylation on the recovery of a lambda phage shuttle vector from transgenic mice. Nucleic Acids Res. 1990, 18 pp. 3007—3013

[19] Short, JM., Kohler, SW. and Provost, GS. The use of lambda phage shuttle vectors in transgenicmice for development of a short term mutagenicity assay. In: Mutation and the environment. Wiley-Liss, New York, 1990, pp. 355—67

Библиография по тестам оценки клеточной трансформации

[20] Leboeuf R.A., Kerckaert K.A., Aadema M.J., Isfort R.J. Use of the Syrian hamster embryo and BALB/c 3T3 cell transformation for assessing the carcinogenic potential of chemicals. IARC Sci.Publ. 1999, 146 pp. 409—425. Available at: gost.e-ecolog.ru

[21] Leboeuf R.A., Kerckaert K.A., Aadema M.J., Gibson D.P., Brauninger R., Isfort R.J. The pH 6.7hamster embryo cell transformation assay for assessing the carcinogenic potential of chemicals.Mutat. Res. 1996, 356 pp. 65—84

[22] Aardema M.J., Isfort R.J., Thompson E.D., Leboeuf R.A. The low pH Syrian hamster embryo(SHE) cell transformation assay: a revitalized role in carcinogenic prediction. Mutat. Res. 1996,356 pp. 5—9

[23] Isfort R.J., & Leboeuf R.A. The Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation system: a biologically relevant in vitro model — with carcinogen predicting capabilities — of in vivo multistageneoplastic transformation. Crit. Rev. Oncog. 1995, 6 pp. 251—260

[24] Advances in Modern Environment Toxicology, Vol.1. Mammalian Cell Transformation by ChemicalCarcinogens. N. Mishra, V. Dunkel, and M. Mehlman (eds). Senate Press: Princeton Junction (NewJersey, 08550), 1981

[25] Transformation Assays of Established Cell Lines. Mechanisms and Application. T. Kakunagaand H. Yamasaki (eds). Proceedings of a Workshop Organized by IARC in Collaboration with theUS National Cancer Institute and the US Environmental Protection Agency, Lyon 15—17 Feb. 1984. IARC Scientific Publication No. 67

[26] Barrett J.C., Ohshimura M., Tanaka N., Tsutsui T. Genetic and Epigenetic Mechanisms of Presumed Nongenotoxic Carcinogens. In: Banbury Report 25. Nongenotoxic Mechanisms in Carcinogenesis, 1987, pp. 311—24

[27] Oshimura M., Hesterberg T.W., Tsutsui T., Barrett J.C. Correlation of Asbestos-induced Cytogenetic Effects with Cell Transformation of Syrian Hamster Embryo Cells in Culture. CancerRes. 1984 Nov., 44 pp. 5017—5022

[28] Barrett J.C., Oshimura M., Tanaka N., Tsutsui T. Role of Aneuploidy in Early and Late Stages of Neoplastic Progression of Syrian Hamster Embryo Cells in Culture. In: Aneuploidy, (DellargoW.L., Voytek P.E., Hollaender A. eds.). Plenum Publishing, 1985

[29] Fitzgerald D.J., & Yamasaki H. Tumor promotion: Models and assay systems. TeratogenesisCarcinog. Mutage. 1990, 10 (2) pp. 89—102

[30] Kuroki T., & Matsushima T. Performance of short-term tests for detection of human carcinogens.Mutagenesis. 1987, 2 (1) pp. 333—337

[31] Ray V.A. et al. An approach to identifying specialized batteries of bioassays for specific classes of chemicals: Class analysis using mutagenicity and carcinogenicity relationships and phylogenetic concordance and discordance patterns. 1. Composition and analysis of the overall data base. A report of phase II of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. Mutat. Res.1987, 3 pp. 197—241

[32] Dunkel VD., Schechtman LM., Tu AS., Sivak A., Lubet RA., Cameron TP. Interlaboratory evaluation of the C3H/10T1/2 cell transformation assay. Environ. Mol. Mutagen, 1988, 12 (1), No.1, pp. 12-31

[33] Jones C.A., & Huberman E. Callaham, MF., Tu, A., Halloween, W., Pallota, S., Sivak, A., Lubet,RA., Avery, MD., Kouri, RE., Spalding, J. and Tennant, RW. An interlaboratory evaluation of the Syrian hamster embryo cell transformation assay using eighteen coded chemicals. Toxicol. InVitro. 1988, 2 (2) pp. 103—116

[34] Schectman, Rodent cell transformation assays — A brief historical perspective. Mutat. Res. 2012, 744 (1) pp. 3—7

Библиография по тестированию генотоксичности и канцерогенности

[35] Morita T., Asano N., Awogi T., Sasaki Y.F., Sato S., Shimada H. et al. Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (groups 1, 2A and 2B) the summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS MMS. Collaborative Study of the Micronucleus Group Test. Mammalian Mutagenicity Study Group. Mutat. Res. 1997, 389 (1) pp. 3—122

[36] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Some Monomers, Plastics, and Synthetic Elastomers and Acrolein, Vol. 19, 1979, pp. 41.

[37] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Surgical Implants and Other Foreign Bodies, Vol. 74, 1999, pp. 225—8

[38] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Surgical Implants and Other Foreign Bodies, Vol. 74, 1999, pp. 282—97

[39] Nakamura A. et al. Difference in tumor incidence and other tissue responses to polyetherurethanes and polydimethylsiloxane in long-term subcutaneous implantation into rats. J. Biomed. Mater.Res. 1992, 1992 pp. 631—650

[40] Tsuchiya T., & Nakamura A. A new hypothesis of tumorigenesis induced by biomaterials: Inhibitory potentials of intercellular communication play an important role on the tumor-promotion stage. J. Long Term Eff. Med. Implants. 1995, 5 pp. 232—242

[41] Department of Health. Guidelines for the testing of chemicals for mutagenicity. London: HMSO,1989. (Report on Health and Social Security Subjects No. 35)

[42] Department of Health. Guidelines for the evaluation of chemicals for carcinogenicity. London: HMSO, 1992. (Report on Health and Social Security Subjects No. 42)

[43] Oppenheimer B.S., Oppenheimer E.T., Stout A.P. Sarcomas induced in rats by implanting cellophane. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 1948, 67 (33)

[44] Brand K.G., Johnson K.H., Buon L.C. Foreign Body, Tumorgenesis CRC Crit. Rev. Toxicology, October 1976, pp. 353.

[45] Brand L., & Brand K.G. Testing of Implant Materials for Foreign Body Carcinogenesis. In Biomaterials, 1980, p. 819

[46] Winter G.D., Gibbons D.F., Plenk H. Jr. eds. Advances in Biomaterials, Volume 3, New York, J.Wiley, 1982

[47] Biological Bases for Interspecies Extrapolation of Carcinogenicity Data. Hill TA., Wands, RC.,Leukroth RW. Jr. (eds). (Prepared for the Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, Department of Health

and Human Services, Washington, D.C.) July 1986,Bethesda (MD): Life Science Research Office, Federation of American Societies for Experimental Biology

[48] National Toxicology Program Report of the BTP Ad Hoc Panel on Chemical Carcinogenesis Testing and Evaluation, August 1984, Board of Scientific Counselors

[49] ASTM F 1439-39Standard guide for performance of lifetime bioassay for the tumorgenic potentialof implant materials

[50] Carere A. et al. Methods and testing strategies for evaluating the genotoxic properties of chemicals, European Commision Report EUR 15945 EN, ISSN 1018-5593, Luxemburg (1995)

[51] Foran J.A. (ED), Principles for the selection of doses in chronic rodent bioassays, ILSI Risk Science Institute, Washington DC, USA, ISBN 0.944398-71-5, 1997

Библиография по тестированию токсического воздействия на репродуктивную функцию и развитие потомства

[52] Guideline for toxicity studies of drugs manual, Chapter 4: Reproductive and developmental toxicity studies. First edition. Editorial Supervision by New Drugs Division, Pharmaceutical Affairs Bureau, Ministry of Health and Welfare, 1990, Yakuji Nippo Ltd

[53] Gabrielson J.L., & Larsson K.S. Proposal for improving risk assessment in reproductive toxicology. Pharmacol. Toxicol. 1990, 66 pp. 10—17

[54] Neubert D. et al. Results of in vivo and in vitro Studies for Assessing Prenatal Toxicity. Environ.Health Perspect. 1986, 70 pp. 89—103

[55] Sadler T.W., Horton W.E., Warner C.W. Whole Embryo Culture: A Screening Technique forTeratogens? Teratog. Carcinog. Mutagen. 1982, 2 pp. 243—253

[56] In vitro Methods in Developmental Toxicology: Use in Defining Mechanisms and Risk Parameters.GL. Kimmel and DM. Kochhar (eds.). Boca Raton (Florida): CRC Press, 1990

[57] In vitro Embryotoxicity and Teratogenicity Tests. F. Homburger and AH. Goldberg (eds.). Conceptsin Toxicology, Vol. 3. Karger, Basel, 1985

[58] Brent R.L. Predicting Teratogenic and Reproductive Risks in Humans from Exposure to VariousEnvironmental Agents Using In vitro Techniques and In vivo Animal Studies. Cong. Anom. 1988,28 (Suppl.) pp. 41—55

[59] Tsuchiya T., Nakamura A., Iio T., Takahasi A. Species Differences between Rats and Mice in the Teratogenic Action of Ethylenethiourea: In vivo/In vitro Tests and Teratogenic Activity of Sera Using an Embryonic Cell Differentiation System. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1991, 109 pp. 1—6

[60] Tsuchiya T. et al. Embryolethality of new herbicides is not detected by the micromass teratogentests. Arch. Toxicol. 1991, 65 pp. 145—149

[61] Kistler A., Tsuchiya T., Tsuchiya M., Klaus M. Teratogenicity of arotinoids (retinoids) in vivo and in vitro. Arch. Toxicol. 1990, 64 pp. 616—622

[62] Tsuchyia T. et al. Comparative Studies of Embryotoxic Action of Ethylenethiourea in Rat Whole Embryo and Embryonic Cell Culture. Teratology. 1991, 43 pp. 319—324

[63] Report of the in vitro teratology task force, Organized by the Division of Toxicology, Office of Toxicological Sciences, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration. Environ. Health Perspect. 1987, 72 pp. 200—235

[64] Bass R. et al. Draft guideline on detection of toxicity to reproduction for medical products. Adverse Drug React. Toxicol. Rev. 1991, 9 (3) pp. 127—141

[65] Brown et al. Screening chemicals for reproductive toxcity: the current approaches — the report and recommendations of an ECVAM/EST workshop (ECVAM Workshop 12), ATLA, 1995, 23, pp.868—882

[66] Spielmann R. Reproduction and development. Environ. Health Perspect. 1998, 106 (Suppl. 2) pp. 571—576

Библиография по тестам на трансгенных животных в качестве альтернативных тестам по оценке канцерогенности в течение жизни лабораторных животных

[68] Storer R.D. Current status and use of short/medium term models for carcinogenicity testing of pharmaceuticals - scientific perspective. Toxicol. Lett. 2000, 112—113 pp. 557—566

[69] Dass S.B. et al. Evaluation of the transgenic p53± mouse for detecting genotoxic liver carcinogens in a short-term bioassay. Cancer Lett. 1999, 143 pp. 81—85

[70] Tennant R .W. e t al. Genetically altered mouse models for identifying c arcinogens. IARC Sci.Publ. 1999, 146 pp. 123—150

[71] Mahler J.F. et al. Spontaneous and chemically induced proliferative lesions in TG. AC transgenic and p53-heterozygous mice. Toxicol. Pathol. 1998, 26 pp. 501—511

[72] Tamaoki N. The rasH2 transgenic mouse: Nature of the model and mechanistic studies on tumorigenesis. Toxicol. Pathol. 2001, 29 (Supplement) pp. 81—89

[73] Usui T., Mutai M., Hisada S., Takaoka M., Soper K.E., McCullough B. et al. CB6F1-rasH2 mouse: Overview of available data. Toxicol. Pathol. 2001, 29 (Supplement) pp. 90—108

[74] MacDonald J., French J.E., Gerson R.J., Goodman J., Inoue T., Jacobs A. et al. The utility of genetically modified mouse assays for identifying human carcinogens: A basic understanding and path forward. Toxicol. Sci. 2004, 77 pp. 188—194

[75] Urano K., Suzuki S., Machida K., Sawa N., Eguchi N., Kikuchi K. et al. Use of IC Tags in short-term carcinogenicity study on CB6F1 TGrasH2 mice. J. Toxicol. Sci. 2006, 31 pp. 407—418

Библиография процедуре подготовки образцов при тестировании генотоксичности

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

[77] Oba T., Tsuji K., Nakamura A., Shintani H., Mizumachi S., Kikuchi H. et al. Migration of acetylated hemicellulose from capillary hemodialyzer to blood, causing scleritis and/or iritis. Artif. Organs. 1984, 8 (4) pp. 429—435

[78] OECD Environment Directorate. Chemical group and management committee, Third Meetingof OECD Experts on Polymers (Tokyo, 14-16 April 1993) Chairman's Report

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

[80] Nakamura A., Kawasaki Y., Takada K., Aida Y., Kurokawa Y., Kojima S. et al. Difference in tumor incidence and other tissue responses to polyetherurethanes and polydimethylsiloxane in long-term subcutaneous implantation into rats. J. Biomed. Mater. Res. 1992, 26 pp. 631—650

[81] Nakamura A., Kojima S., Isama K., Umemura T., Kawasaki Y., Takada K. et al. The effects of oligomers content and surface morphology on foreign-body tumorigenesis with polyetherurethanes: two years subcutaneous implantation study in rats. J. Long Term Eff. Med. Implants. 1995, 5 pp. 263—273

[82] Reid, RC., Schwope, AD., Sidman, KR.: 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

[83] Muller B.P., Ensslen S., Dott W., Hollender J. Improved sample preparation of biomaterials for in vitro genotoxicity testing using reference materials. J. Biomed. Mater. Res. 2002, 61 pp. 83—90

[84] Matsuoka A., Isama K., Tsuchiya T. In vitro induction of polyploidy and chromatid exchanges by culture medium extracts of natural rubbers compounded with 2-mercaptobenzothiazole as a positive control candidate for genotoxicity tests. J. Biomed. Mater. Res. 2005, 75 pp. 439—444

[85] 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.2008, 86 pp. 13—22

[86] MHLW Notification by Director. OMDE, Yakushokuki-hatsu 0301 No. 20, March 1, 2012: BasicPrinciples of Biological Safety Evaluation Required for Application for Approval to Market Medical Devices, Part 3 Genotoxicity Test. YAKUJI NIPPO Ltd, Tokyo, 2012

Библиография по тестам оценки эмбриотоксичности *in vitro*

[87] Brown N.A., Spielmann H., Bechter R., Flint O.P., Freeman S.J., Jelinek R.J. et al. Screening chemicals for reproductive toxicity: the current alternatives. The report and recommendationsof an ECVAM/ETS workshop, ECVAM workshop 12. ATLA. 1995, 23 pp. 868—882

[88] INVITTOX protocol no. 114. (1996). In vitro Micromass Teratogen Assay. The ERGATT/FRAME Data Bank of In vitro Techniques in Toxicology

[89] Piersma A.H., Attenon P., Bechter R., Govers M.J.A.P., Krafft N., Schmid B.P. et al. Interlaboratory evaluation of embryotoxicity in the postimplantation rat embryo culture. Reprod. Toxicol. 1995, 9 pp. 275—280

[90] Piersma A.H., Bechter R., Krafft N., Schmid B.P., Stadler J., Verhoef A. et al. An interlaboratory evaluation of five pairs of teratogens in postimplantation rat embryo culture. ATLA. 1996, 24 pp. 201—209

[91] INVITTOX protocol no. 68. (1993). Embryotoxicity testing using a whole embryo culture WE Cprocedure. The ERGATT/FRAME Data Bank of In vitro Techniques in Toxicology

[92] Scholz G., Genschow E., Pohl I., Bremer S., Paparella M., Raabe H. et al. Prevalidation of the Embryonic Stem Cell Test (EST), a new in vitro Embryotoxicity Test. Toxicol. *In vitro.* 1999, 13 pp. 675—681

[93] Spielmann H., Pohl I., Döring B., Liebsch M., Moldenhauer F. The embryonic stem cell test (EST), an in vitro embryotoxicity test using two permanent mouse cell lines: 3T3 fibroblasts and embryonic stem cells. In Vitro Toxicol. 1997, 10 pp. 119—127

[94] Seiler A., Buesen R., Visan A., Spielmann H. Use of Murine Embryonic Stem Cells in Embryotoxicity Assays: The Embryonic Stem Cell Test. Methods Mol. Biol. 2006, pp. 371—395

[95] INVITTOX protocol no. 113. (1996). Embryonic Stem Cell Test (EST). The ERGATT/FRAME Data Bank of In vitro Techniques in Toxicology

[96] Genschow E., Spielmann H., Scholz G., Seiler A., Brown N.A., Piersma A. et al. The ECVAM international validation study on in vitro embryotoxicity tests. Results of the definitive phase and evaluation of prediction models. ATLA. 2002, 30 pp. 151—176

[97] Brown N.A. Selection of test chemicals for the ECVAM international validation study on in vitro embryotoxicity tests. ATLA. 2002, 30 pp. 177—198

[98] Genschow E., Spielmann H., Scholz G., Pohl I., Seiler A., Clemann N. et al. Validation of the embryonic stem cell test (EST) in the international ECVAM validation study of three in vitro embryotoxicity tests. ATLA. 2004, 32 pp. 209—244

[99] Spielmann H., Genschow E., Brown N.A., Piersma A.H., Verhoef A., Spanjersberg M.Q.I. et al.Validation of the postimplantation rat limb bud micromass (MM) test in the international ECVAM validation study of three in vitro embryotoxicity tests. ATLA. 2004, 32 pp. 245—274

[100] Piersma A.H., Genschow E., Verhoef A., Spanjersberg M.Q.I., Brown N.A., Brady M. et al.Validation of the rat postimplantation whole embryo culture test (WEC) in the international ECVAM validation study of three in vitro embryotoxicity tests. ATLA. 2004, 32 pp. 275—307

[101] Balls M., & Hellsten E. Statement of the scientific validity of the embryonic stem cell test (EST) — an in vitro test for embryotoxicity. — Statement of the scientific validity of the micromass test — an in vitro test for embryotoxicity. — Statement of the scientific validity of the postimplantation rat whole embryo culture assay— an in vitro test for embryotoxicity. ATLA. 2002, 30 pp. 265—273

[102] Spielmann H., Seiler A., Bremer S., Hareng L., Hartung T., Ahr H. et al. The practical application of three validated in vitro embryotoxicity tests. The report and recommendations of an ECVAM/ZEBET workshop (ECVAM workshop 57). Altern. Lab. Anim. 2006, 5 pp. 527—538

Библиография по тестам оценки генотоксичности

[103] Ashby J., & Tinwell H. The rodent bone marrow micronucleus assay: contrast between its sensitivity to human carcinogens and its insensitivity to NTP rodent carcinogens —. Mutat. Res.1996, 352 pp. 181—184

[104] Benigni R. Mouse bone marrow micronucleus assay: relationships with in vitro mutagenicity and rodent carcinogenicity —. J. Toxicol. Environ. Health. 1995, 45 pp. 337—347

[105] Cimino M. Comparative Overview of Current International Strategies and Guidelines for Genetic Toxicology Testing for Regulatory Purposes. Environ. Mol. Mutagen. 2006, 47 pp. 362—390

[106] Committee on Mutagencity (2000) Guidance on a Strategy for Testing of Chemicals for Mutagenicity, December

[107] ICH. Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use. Step. 2011 November, 4 p. 9

[108] Draft 2008 S2(R1) Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use

[109] Elespuru R.K. et al. FORUM: Current and Future Application of Genetic Toxicity Assays: The Role and Value of In vitro Mammalian Assays. Toxicol. Sci. 2009, 109 pp. 172—179

[110] Website F.D.A. Limits of Recognition of ISO 10993-3 available at gost.e-ecolog.ru cfStandards/search.cfm

[111] Glatt H., Padykula R., Berchtold G.A., Ludewig G., Platt K.L., Klein J. et al. Multiple Activation Pathways of benzene leading to products with varying genotoxic characteristics. Environ. Health Perspect. 1989, 82 pp. 81—89

[112] Gollapudi B., Schisler M.R., Moore M.M. Evaluation of publicly available mouse lymphoma assay data using currently accepted standards to establish a curated data base. Toxicologist.2010, 114 p. 148

[113] Kim B.S., & M argolin B.H. Prediction of Rodent Carcinogenicity Utilizing a Battery of In vitro and In vivo Genotoxicity Tests — Environ. Mol. Mutagen. 1999, 34 pp. 297—304

[114] Kirkland D., Aardema M., Henderson L., Muller L. Evaluation of the ability of a battery of three in vitro genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens I. Sensitivity, specificity and relative predictivity —. Mutat. Res. 2005, 584 pp. 1—256

[115] Morita T., Asano N., Awogi T., Sasaki Y.F., Sato S., Shimada H. et al. Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (groups 1, 2A and 2B) — The summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS·MMS. Mutat. Res. 1997, 389 pp. 3—122

[116] Rosenkranz H., & Cunningham A. The high production volume chemical challenge program: the relevance of the in vivo micronucleus assay — Regul. Toxicol. Pharmacol. 2000, pp. 182—189

[117] Shelby M.D. Selecting chemicals and assays for assessing mammalian germ cell mutagenicity. Mutat. Res. 1996, 352 (3) pp. 159—167

[118] Shelby M.D., Erexson G.L., Hook G.J., Tice R.R. Evaluation of the three-exposure mouse bone marrow micronucleus protocol, results with 49 chemicals. Environ. Mol. Mutagen. 1993, 21 pp. 160—179

[119] Shelby M.D., & Zeiger E. Activity of human carcinogens in the Salmonella and rodent bone marrow cytogenetics tests. Mutat. Res. 1990, 234 (3-4) pp. 257—261

[120] Snyder R.D. An Update on the Genotoxicity and Carcinogenicity of Marketed Pharmaceuticals with Reference to In Silico Predictivity. Environ. Mol. Mutagen. 2009, 50 pp. 435—450

[121] Tweats D.J., Blakey D., Heflich R.H., Jacobs A., Jacobsen S.D., Morita T. et al. Report of thel WGT working group on strategy/interpretation for regulatory in vivo tests II. Identification of in vivo-only positive compounds in the bone marrow micronucleus test. Mutat. Res. 2007, 627 pp. 92—105

[122] Tweats D.J., Scott A.D., Westmoreland C., Carmichael P.L. Determination of genetic toxicity and potential carcinogenicity *in vitro* — challenges post the seventh amendment to the European Cosmetics Directive. Mutagenesis. 2007, 22 pp. 5—13

[123] Witt K., Knapton A., Wehr C., Hook G., Mirsalis J., Shelby M. et al. Micronucleated erythrocyte frequency in peripheral blood of B6C3F Mice from short-term, prechronic, and chronic studies of the NTP carcinogenesis bioassay program. Environ. Mol. Mutagen. 2000, 36 pp. 163—194

[124] ISO/TR 10993-33. Biological evaluation of medical devices. Supplement to ISO 10993-3 — Guidance on tests to evaluate genotoxicity

УДК 615.46:002:006.354 МКС 01.020 Р20 IDT

Ключевые слова: изделия медицинские, экстракция, исчерпывающая экстракция

БЗ 5—2018/18

Редактор *Л.С. Зимилова*
Технический редактор *И.Е. Черепкова*
Корректор *С.И. Фирсова*
Компьютерная верстка *Е.А. Кондрашовой*

Сдано в набор 04.10.2018. Подписано в печать 16.10.2018. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 4,65. Уч.-изд. л. 4,18.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ»
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