МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ СССР

УПРАВЛЕНИЕ ПО ВНЕДРЕНИЮ НОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

ВСЕСОЮЗНЫЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ И ИСПЫТАТЕЛЬНЫЙ ИНСТИТУТ МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ

СБОРНИК РУКОВОДЯЩИХ МЕТОДИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ПО ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКИМ ИССЛЕДОВАНИЯМ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ НА ИХ ОСНОВЕ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Москва 1987

gost.e-ecolog.ru

Утверждено начальником Управления
по внедрению новых лекарственных средств
и медицинской техники
Э. А. Бабаяном от 27 ноября 1985 года

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ:

Э. А. Бабаян, В. Г. Лаппо, С. Я. Ланина, Т. И. Носкова, В. И. Тимохина.

Научно-методические документы разработаны и внедрены в практику токсиколого-гигиенической оценки материалов и изделий медицинского назначения сотрудниками ВНИИИ медицинской техники Минздрава СССР — **В. Г. Лаппо** (зав. отделом токсикологии), **В. И. Тимохиной, Н. М. Перовой, С. Я. Ланиной, В. И. Долгополовым, Н. М. Каминской, Н. Г. Тышковской, Р. И. Каюмовым, Л. А. Самариной, Н. Б. Емельяновой, Т. М. Винокурской, Т. В. Селаври**; сотрудниками Института органической химии АН УССР — **Г. А. Пхакадзе, Н. А. Галатенко**; Киевского медицинского института — **В. П. Яценко**; сотрудниками Московского медицинского стоматологического института им. Н. А. Семашко — **В. П. Марковым, И. Ю. Лебеденко.**

ОГЛАВЛЕНИЕ

Часть I. **Научно-методические документы по токсиколого-гигиеническим исследованиям новых полимерных, других материалов и изделий на их основе для медицины.**

1. Общие методические указания к токсиколого-гигиенической оценке полимерных материалов и изделий на их основе для медицины . 7
2. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию полимерных материалов и изделий для эндопротезирования 18
3. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию медицинских клеев, предназначенных для соединения мягких и костной тканей организма 25
4. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию материалов, узлов и аппаратов по замене функций внутренних органов 29
5. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию шовных хирургических нитей и перевязочных материалов . . 34
6. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию полимерных пломбировочных материалов стоматологического назначения 46
7. Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию металлических сплавов для протезирования в ортопедической стоматологии 58

Часть II. **Унифицированная методика контроля токсичности серийно выпускаемых полимерных изделий медицинского назначения однократного применения**

1.1. Общие положения 62
1.2. Порядок отбора изделий 63
1.3. Условия приготовления экстрактов из изделий 63
1.4. Санитарно-химические испытания изделий 70
1.5. Гемолитический тест 73
1.6. Токсикологические испытания на мышах 73
1.7. Оценка результатов 74

Часть III. **Экспресс-методы определения токсичности полимерных материалов и изделий медицинского назначения**

1. Методика определения токсического действия вытяжек из материалов на культуре тканей 77

2. Методика определения гемолитического действия вытяжек из материалов и изделий «ин витро» 83
3. Методика определения токсического действия вытяжек из материалов и изделий на изолированном сердце лягушки 86
4. Методика определения биосовместимости полимерных материалов и изделий для эндопротезирования по их влиянию на лимфоидную ткань 88
5. Методика определения токсического действия вытяжек из материалов и изделий на половых клетках крупного рогатого скота . 94
Перечень литературы и справочных источников 96

ЧАСТЬ III

ЭКСПРЕСС-МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ТОКСИЧНОСТИ МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ

2. МЕТОДИКА ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЕМОЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ПОЛИМЕРНЫХ МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ «ИН ВИТРО»

2.1. ПРИНЦИП МЕТОДА — ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГЕМОЛИТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ ВЫТЯЖКИ ИЗ ПОЛИМЕРА ПО 100% ГЕМОЛИЗУ

2.2. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ВЫТЯЖЕК. ВЫТЯЖКИ ГОТОВЯТ В СООТВЕТСТВИИ С МЕТОДИЧЕСКОЙ И НОРМАТИВНОЙ ДОКУМЕНТАЦИЕЙ ДЛЯ КОНКРЕТНЫХ ГРУПП МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ

2.3. ПРИГОТОВЛЕНИЕ 10% ВЗВЕСИ ЭРИТРОЦИТОВ

Для приготовления взвеси эритроцитов может быть использована эритроцитная масса или цитратная кровь, заготовленная на 3,9% растворе цитрата натрия в соотношении 1 : 9. Срок хранения цитратной крови (эритроцитарной массы) 72 ч при +4° С. Кровь (эритроцитарную массу) 5 мл центрифугировать 10 мин при 900 об/мин. Надосадочную жидкость отделить. К осадку добавить 8 мл стерильного 0,9% раствора хлористого натрия. Содержимое взболтать и центрифугировать 10 мин при 900 g. Надосадочную жидкость отделить.

Эта операция (отмывание клеток) повторяется два раза. После отмывания надосадочная жидкость должна быть прозрачна, бесцветна, не иметь следов гемолиза. Если надосадочная жидкость не отвечает указанным требованиям, эритроциты не могут быть использованы для приготовления взвеси эритроцитов.

Для получения 10% взвеси эритроцитов 1 мл осадка клеток смешивают с 9 мл 0,9% раствора хлористого натрия. Полученную взвесь эритроцитов можно хранить не более 24 часов в холодильнике при температуре от —4 до —6° С.

2.4. ПРИГОТОВЛЕНИЕ ПРОБ: КОНТРОЛЬНОЙ И СО 100% ГЕМОЛИЗОМ

2.4.1. Контрольная проба: 0,5 мл 10% взвеси эритроцитов и 5 мл 0,9% раствора хлористого натрия.

2.4.2. Проба со 100% гемолизом (0,5 мл 10% взвеси эритроцитов и 5 мл дистиллированной воды). Происходит полное разрушение эритроцитов, что соответствует 100% гемолизу.

2.4.3. Контрольная проба и проба со 100% гемолизом готовится для каждого образца эритроцитной взвеси.

2.5. ХОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ

До определения гемолитического действия к вытяжке (приготовленной на дистиллированной воде) необходимо добавить хлористый натрий из расчета 9 мг на 1 мл вытяжки для превращения дистиллированной воды в изотонический раствор для крови.

В 3 пробирки разлить по 0,5 мл 10% взвеси эритроцитов. К 0,5 мл 10% взвеси эритроцитов в каждую пробирку добавить по 5 мл вытяжки, в которую предварительно добавлен хлористый натрий до 0,9% раствора. Смесь поставить в термостат на 1 час при температуре 37° С, затем отцентрифугировать в течение 20 мин при 2000 об/мин.

Все манипуляции по отношению к контролю и пробе со 100% гемолизом проводятся параллельно с опытными пробами, как описано выше. Надосадочную жидкость отделить для проведения измерений оптической плотности.

2.6. ОПТИЧЕСКИЕ ИЗМЕРЕНИЯ

Опытные, контрольную пробу и пробу со 100% гемолизом измеряют на фотоэлектроколориметре (ФЭК-60, КФК) при длине волны 540 нм против «холостой» пробы (вода), Толщина кюветы 1 см. Результаты регистрируются по оптической плотности.

2.7. РАСЧЕТ % ГЕМОЛИЗА ПРОИЗВОДИТСЯ ПО ФОРМУЛЕ:

$$\% \text{ гемолиза} = \frac{E_{оп.} - E_к}{E_{100}} \cdot 100,$$

где $E_{оп.}$ — оптическая плотность опытной пробы;
$E_к$ — оптическая плотность контрольной пробы;
E_{100} — оптическая плотность воды со взвесью эритроцитов 100% гемолиз.

Например: $E_{оп.}$ — 0,015
$E_к$ — 0,01,
E_{100} — 1,0.

$$\% \text{ гемолиза} = \frac{0{,}015 - 0{,}01}{1{,}0} \cdot 100 = 0{,}5$$

Примечания:

1. Если оптическая плотность контрольной пробы (10% эритроцитная взвесь с 0,9% раствором хлористого натрия) составляет 0,03 и более, результаты всего опыта недостоверны и не учитываются.

2. Оптическая плотность раствора со 100% гемолизом должна быть не менее 0,8 и не более 1. В случае отклонения от указанных пределов опыт следует повторить с вновь приготовленной эритроцитной взвесью.

3. Если шкала фотоэлектроколориметра от 0 до 1,0, а оптическая плотность более 1, то необходимо раствор развести в 2 раза, затем определить оптическую плотность и увеличить ее еще в 2 раза.

4. При проведении научных исследований для обеспечения статистической достоверности результатов необходимо опыты ставить не менее чем на 5 образцах крови.

2.8. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Испытуемое изделие свободно от гемолитически действующих веществ, если % гемолиза во всех трех пробах менее 2.

Если процент гемолиза одной пробы более 2, то опыт следует повторить. При получении такого же результата вытяжка считается гемолитически активной, и дальнейшие испытания не проводятся.

В случае отсутствия гемолитического действия проводятся дальнейшие токсикологические испытания.

ПЕРЕЧЕНЬ ЛИТЕРАТУРНЫХ И СПРАВОЧНЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Алексеева О. Г., Петкевич А. И. и др. Оценка некоторых методов «ин витро» для выявления аллергии к химическим веществам // Гигиена и санитария, 1975, № 7.

2. Алексеева О. Г., Дуева Л. А. Аллергия к промышленным химическим соединениям.— М.: Медицина, 1978.

3. Бернет Ф. Клеточная иммунология.— М.: Мир, 1971.

4. Брауде Н. И. Феномен трансформации малых лимфоцитов в бласты как иммунологическая проблема // Успехи современной биологии, 1969, т. 67, вып. 3.

5. Быховская М. С., Гинзбург С. Л. и др. Методы определения вредных веществ в воздухе и других средах.— М.: Медицина, 1961.

6. Ветеринарное акушерство и гинекология.— М.: Колос, 1977.

7. Вопросы гигиенического нормирования и изучения отдаленных последствий воздействия промышленных веществ.— М.: Медицина, 1972.

8. Вильямс Д. Ф., Роуд Р. Имплантаты в хирургии.— М.: Медицина, 1978.

9. ГОСТ 12.1.007—76 Вредные вещества. Классификация и общие требования безопасности.

10. Гадаскина И. Д., Филов В. А. Превращение и определение промышленных органических ядов в организме.— Л.: Медицина, 1971.

11. Гадаскина И. Д., Гадаскина Н. Д., Филов В. А. Определение промышленных неорганических ядов в организме.— Л.: Медицина, 1975.

12. Тезисы докладов V Всесоюзной конференции «Гигиена и токсикология высокомолекулярных соединений и химического сырья, используемого для их синтеза».— Л., 1975

13. Тезисы докладов VI Всесоюзной конференции «Гигиена и токсикология высокомолекулярных соединений и химического сырья, используемого для их синтеза».— Киев, 1976.

14. Гигиеническая оценка медицинских полимерных материалов и изделий различного назначения // Научный обзор ВНИИМИ.— М., 1983.

15. Гублер Е. В., Генкин А. А. Применение методов непараметрической статистики для оценки различий двух групп наблюдений в медико-биологических исследованиях.— М.: Медицина, 1978.

16. Зауголышков С. Д., Качанов М. М. и др. Экспрессные методы определения токсичности и опасности химических веществ.— М.: Медицина, 1978.

17. Измеров М. Ф., Саноцкий И. В., Сидоров К. К. Параметры токсикометрии промышленных ядов при однократном воздействии.— М.: Медицина, 1977.

18. Комиссарова И. А., Сура В. В. Цитохимические изменения лейкоцитов в периферической крови при иммунологической стимуляции в эксперименте // Бюл. экспрес экспер. биологии и медицины, 1969, т. 68, № 11.

19. Кисели Д. **Практическая микротехника и гистохимия.**— Будапешт: Изд-во Академии наук Венгрии, 1963.

20. Луппа Х. **Основы гистохимии.**— М.: Мир, 1980.

21. Мартынова А. П. **Гигиена труда в производстве и переработке синтетических волокон.**— М.: Медицина, 1977.

22. Меркулов Г. А. **Курс патогистологической техники.**— М.: Медицина, 1961.

23. **Методические указания по санитарно-химическому исследованию детских резиновых и латексных сосок.**— М., Минздрав СССР, 1974.

24. **Методические указания по санитарно-гигиенической оценке полимерных строительных материалов, предназначенных для применения в строительстве жилых и общественных зданий.**— М.: Минздрав СССР, 1976.

25. **Методы определения токсичности и опасности химических веществ.**— М.: Медицина, 1970.

26. **Методические указания к постановке исследований по гигиеническому нормированию промышленных аллергенов.**— М.: Минздрав СССР, 1978.

27. **Методические указания по гигиенической оценке одежды и обуви из полимерных материалов.**— М.: Минздрав СССР, 1977.

28. **Методические указания к постановке исследований по выявлению сенсибилизирующих свойств и установлению порогов аллергенов действия промышленных химических веществ.**— М.: Минздрав СССР, 1975.

29. **Методические и методологические вопросы гигиены и токсикологии полимерных материалов и изделий медицинского назначения** // Научный обзор ВНИИМИ.— М., 1982.

30. Мороз В. Г. **Влияние малых концентраций некоторых веществ на время переживания сперматозоидов «ин витро» и их энергетический обмен.**— Автореф. канд. дисс.— Л., 1969.

31. Новиков Ю. В., Ласточкина К. О., Болдина З. Н. **Методы определения вредных веществ в воде водоемов.**— М.: Медицина, 1981.

32. **Оценка воздействия вредных химических соединений на кожные покровы и обоснование предельно допустимых уровней загрязнения кожи** // Методические указания. Минздрав СССР — М., 1980.

33. Нарциссов Р. П. **Цитохимия ферментов лейкоцитов в педиатрии.**— Автореф. дисс.— М., 1970.

34. Перегуд Е. А. **Санитарная химия полимеров.**— М., 1967.

35. Пирс З. **Гистохимия.**— М.: Медицина, 1967.

36. Пиотровский Е. **Использование кинетики метаболизма и выведение токсичных веществ в решении проблем промышленной токсикологии.**— М.: Медицина, 1976.

37. Покровская М. И., Макарова М. С. **Цитология раневого экссудата как показатель процесса заживления ран.**— М.: Медгиз, 1962.

38. **Предельно допустимые концентрации вредных веществ в воздухе и воде.**— Л.: Химия, 1972.

39. **Принципы предельно допустимых концентраций.**— М.: Медицина, 1970.

40. **Профилактическая токсикология** // Сб. учебно-методических материалов. Программа ООН по окружающей среде. Центр международных проектов ГКНТ.— М., 1984, т. I и т. II.

41. Левицкая Л. А., Лаппо В. Г. **Экспресс-метод сравнительной оценки полимерных материалов для изделий, контактирующих с кровью, по их гемолитическому действию «ин витро».**— Рационализаторское предложение № 19 от 20.02.81 г.

42. Ромейс В. **Микроскопическая техника.**— М.: Иностранная литература, 1953.

43. Рылова М. Л. Методы исследования хронического действия вредных факторов среды в эксперименте.— М.; Л.: Медицина, 1964.

44. Синтетические полимеры медицинского назначения // Сб. лекций и материалов I Всесоюзной школы-семинара по медицинским полимерам.— Ташкент: Изд-во «Фан» УзССР, 1984.

45. Саноцкий И. В., Уланова И. П. Критерии вредности в гигиене и токсикологии при оценке опасности химических соединений.— М.: Медицина, 1975.

46. Соколов В. В., Нарциссов Р. П., Иванова Л. А. Цитохимия ферментов в профпатологии.— М.: Медицина, 1975.

47. Сосонкин И. Е. Агглюмерация лейкоцитов при диагностике аллергии, вызванной химическими и лекарственными соединениями // Лабораторное дело.— 1968.— № 12, С. 707.

48. Саноцкий И. В., Фоменко В. Н. Отдаленные последствия влияния химических соединений на организм.— М.: Медицина, 1979.

49. Трахтенберг И. И., Сова Р. Е., Шефтель В. О. Показатели нормы у лабораторных животных в токсикологическом эксперименте.— М.: Медицина, 1978.

50. Токсикология новых промышленных веществ.— М.: Медицина, 1961—1975, вып. 2—14.

51. Шевченко М. Г., Генель С. В., Феофанов В. Д. Гигиенические требования к полимерным материалам, применяемым в пищевой промышленности.— М.: Медицина. 1972.

52. Шефтель В. О. Полимерные материалы. Токсические свойства: Справочник.— Л.: Химия, 1982.

53. Экспрессные методы определения токсичности и опасности химических веществ.— М.: Медицина, 1978.

Редактор Галахова В. И.
Технический редактор Передерий С. П.

П-57177 Подписано к печати 11.08.86
Тираж 500. Зак. 27.

Типография Академии МВД СССР, Москва

gost.e-ecolog.ru