ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р ИСО 10993-11— 2009

ИЗДЕЛИЯ МЕДИЦИНСКИЕ

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Часть 11

Исследования общетоксического действия

ISO 10993-11:2006
Biological evaluation of medical devices — Part 11: Tests for systemic toxicity (ITD)

Издание официальное

БЗ 5—2009/186

Москва
Стандартинформ
2010

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Автономной некоммерческой организацией «Институт медико-биологических исследований и технологий (АНО «ИМБИИТ»)

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 422 «Оценка биологического действия медицинских изделий»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 20 октября 2009 г. № 460-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 10993-11:2006 «Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 11. Исследования общетоксического действия» (ISO 10993-11:2006 «Biological evaluation of medical devices — Part 11: Tests for systemic toxicity»).

При применении настоящего стандарта рекомендуется использовать вместо ссылочных международных стандартов соответствующие им национальные стандарты Российской Федерации, сведения о которых приведены в дополнительном приложении G

5 ВЗАМЕН ГОСТ Р ИСО 10993.11—99

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом 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

© Стандартинформ, 2010

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

Содержание

1 Область применения . . . 1
2 Нормативные ссылки . . . 1
3 Термины и определения . . . 1
4 Основные требования . . . 2
4.1 Общие положения . . . 2
4.2 Выбор вида животных . . . 2
4.3 Статус животных . . . 3
4.4 Уход и содержание животных . . . 3
4.5 Размер и число групп . . . 3
4.6 Путь введения . . . 4
4.7 Подготовка образца . . . 4
4.8 Дозирование . . . 4
4.9 Масса тела и потребление пищи/воды . . . 5
4.10 Клинические наблюдения . . . 5
4.11 Клиническая патология . . . 5
4.12 Патологоанатомические исследования . . . 5
4.13 Планирование исследований . . . 6
4.14 Качество исследований . . . 6
5 Острая системная токсичность . . . 6
5.1 Общие положения . . . 6
5.2 Планирование исследования . . . 6
5.3 Критерии оценки . . . 8
5.4 Заключительный отчет . . . 8
6 Системная токсичность многократного введения (подострая, субхроническая и хроническая системная токсичность) . . . 9
6.1 Общие положения . . . 9
6.2 Планирование исследования . . . 10
6.3 Критерии оценки . . . 11
6.4 Заключительный отчет . . . 12
Приложение А (справочное) Пути введения . . . 13
Приложение В (справочное) Объемы дозирования . . . 15
Приложение С (справочное) Распространенные клинические признаки и наблюдения . . . 16
Приложение D (справочное) Рекомендуемые параметры гематологии, клинической химии и анализа мочи . . . 17
Приложение Е (справочное) Список рекомендуемых органов для гистопатологической оценки . . . 18
Приложение F (справочное) Информация по пирогенам, опосредованным материалом . . . 19
Приложение G (справочное) Сведения о соответствии национальных стандартов Российской Федерации ссылочным международным стандартам . . . 20
Библиография . . . 21

Введение

Соблюдение положений стандартов серии ИСО 10993 «Оценка биологического действия медицинских изделий» позволит обеспечить системный подход к исследованию биологического действия медицинских изделий.

Целью этих стандартов не является безусловное закрепление единообразных методов исследований и испытаний за группами однородных медицинских изделий в соответствии с принятой классификацией их по виду и длительности контакта с организмом человека. Поэтому планирование и проведение исследований и испытаний должны осуществлять специалисты, имеющие соответствующую подготовку и опыт в области санитарно-химической, токсикологической и биологической оценок медицинских изделий.

Стандарты серии ИСО 10993 являются руководящими документами для прогнозирования и исследования биологического действия медицинских изделий на стадии выбора материалов, предназначенных для их изготовления, а также для исследований готовых изделий.

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

Часть 1 — Оценка и исследования;

Часть 2 — Требования к обращению с животными;

Часть 3 — Исследования генотоксичности, канцерогенности и токсического действия на репродуктивную функцию;

Часть 4 — Исследование изделий, взаимодействующих с кровью;

Часть 5 — Исследование на цитотоксичность: методы *in vitro*;

Часть 6 — Исследование местного действия после имплантации;

Часть 7 — Остаточное содержание этиленоксида после стерилизации;

Часть 9 — Основные принципы идентификации и количественного определения потенциальных продуктов деградации;

Часть 10 — Исследование раздражающего и сенсибилизирующего действия;

Часть 11 — Исследование общетоксического действия;

Часть 12 — Приготовление проб и стандартные образцы;

Часть 13 — Идентификация и количественное определение продуктов деградации полимерных медицинских изделий;

Часть 14 — Идентификация и количественное определение продуктов деградации изделий из керамики;

Часть 15 — Идентификация и количественное определение продуктов деградации изделий из металлов и сплавов;

Часть 16 — Моделирование и исследование токсикокинетики продуктов деградации и вымывания;

Часть 17 — Установление пороговых значений для вымываемых веществ;

Часть 18 — Исследование химических свойств материалов;

Часть 19 — Исследование физико-химических, морфологических и топографических свойств материалов;

Часть 20 — Принципы и методы исследования иммунотоксического действия медицинских изделий.

Системная токсичность является потенциальным неблагоприятным эффектом использования медицинских изделий. Эффекты обобщенного характера, а также конкретных органов и систем могут появляться в результате абсорбции, распределения и метаболизма веществ, вымываемых из изделия или его материалов, в участках организма, с которыми они не находятся в прямом (непосредственном) контакте. Настоящий стандарт рассматривает оценку обобщенной системной токсичности, но не токсичности конкретного органа-мишени или системы органов, несмотря на то, что таковая может развиться в результате систематической абсорбции и распределения токсических веществ.

В связи с широким спектром медицинских изделий, их материалов и предназначенного использования настоящий стандарт не является строгим предписанием. Несмотря на то, что он рассматривает конкретные методологические аспекты, которые нужно учитывать при планировании исследований системной токсичности, приемлемый план исследований должен быть выработан отдельно с учетом характеристик материалов изделия и его предполагаемого клинического применения.

Другие элементы настоящего стандарта носят нормативный характер, включая аспекты соответствия нормам надлежащей лабораторной практики и сведения, отражаемые в отчетности.

Несмотря на то, что некоторые исследования системной токсичности (например, долгосрочная имплантация или исследования кожной токсичности) могут быть рассчитаны на изучение как системных, так и местных, канцерогенных или репродуктивных эффектов, настоящий стандарт концентрируется только на аспектах таких исследований, предназначенных для оценки системных эффектов. Исследования, предназначенные для оценки других токсикологических конечных точек, рассматриваются в ИСО 10993-3, ИСО 10993-6, ИСО 10993-10 и ИСО 10993-20.

Пирогенность (см. приложение F) представляет собой дополнительный системный эффект, который исторически рассматривается в настоящем стандарте. Тем не менее, предпринимаются шаги для создания отдельного стандарта, посвященного пирогенности.

Токсикология не является точной наукой. Результат любого отдельного анализа не должен становиться единственным основанием определения безопасности изделия при его предназначенном применении.

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ИЗДЕЛИЯ МЕДИЦИНСКИЕ
ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Часть 11

Исследования общетоксического действия

Medical devices. Biological evaluation of medical devices.
Part 11. Tests for systemic toxicity

Дата введения — 2010—09—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает требования и дает рекомендации по процедурам, необходимым для оценки потенциального общетоксического действия химических компонентов, мигрирующих в организм из медицинских изделий.

Настоящий стандарт распространяется на оценку конечного продукта и компонентов его вымывания. Исследования экстрактов из изделия или продуктов вымывания следует проводить с использованием модельной среды, которая обеспечивает максимальную экстракцию продуктов вымывания для дальнейшего биологического исследования.

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты:

ИСО 10993-1 Оценка биологического действия медицинских изделий. Оценка и исследования

ИСО 10993-2 Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 2. Требования к обращению с животными

ИСО 10993-12 Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 12. Приготовление проб и стандартные образцы

3 Термины и определения

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

3.1 **доза:** Количество вводимой исследуемой пробы (т. е. масса, объем), выражаемое на единицу массы тела или площади поверхности.

3.2 **доза — эффект:** Взаимоотношение между дозировкой и масштабами определенного биологического эффекта в организме отдельной особи или в выборке группы.

3.3 **доза — ответ:** Взаимоотношение между дозировкой и спектром эффектов, связанных с воздействием.

Примечание — Существует два типа отношений доза — ответ. Первым типом является реакция особи на диапазон доз. Вторым типом является распределение реакций группы особей на диапазон доз.

3.4 **вымываемое вещество:** Химическое вещество, удаляемое из изделия или материала посредством воды или других жидкостей, связанных с применением изделия.

Издание официальное

Примечание — Примерами вымываемых веществ являются добавки, остатки стерилизующего агента, остатки продуктов обработки, продукты деградации, растворители, пластификаторы, смазочные вещества, катализаторы, стабилизаторы, антиоксиданты, красители, наполнители и мономеры.

3.5 **определяющая доза:** Применение одной группы, получающей соответствующую дозу испытуемого образца для определения наличия или отсутствия токсической опасности.

3.6 **хроническая системная токсичность:** Неблагоприятный эффект, возникающий после многократного или постоянного введения исследуемой пробы в течение большей части продолжительности жизни.

Примечание — Исследования хронической токсичности обычно длятся от 6 до 12 мес.

3.7 **острая системная токсичность:** Неблагоприятный эффект, возникающий в любое время после введения однократной или многократных доз исследуемой пробы в течение 24 ч.

3.8 **подострая системная токсичность:** Неблагоприятный эффект, возникающий после ежедневного введения однократной или многократных доз исследуемой пробы в период от 24 ч до 28 сут.

Примечание — Неблагоприятный эффект, возникающий в указанный период времени, может также быть описан как исследование системной токсичности краткосрочного повторяющегося введения. Выбор интервалов времени от 14 до 28 сут соответствует требованиям большинства международных нормативных руководств и считается разумным подходом. Исследования подострой токсичности при внутривенных введениях проводятся в период более 24 ч, но менее 14 сут.

3.9 **субхроническая системная токсичность:** Неблагоприятный эффект, возникающий после ежедневного введения однократной или многократных доз исследуемой пробы в течение части общей продолжительности жизни (обычно 90 сут, но не более 10 % продолжительности жизни).

Примечание — Исследования субхронической токсичности обычно длятся 90 сут для грызунов, но не превышают 10 % продолжительности жизни у животных других видов.

3.10 **хроническая системная токсичность:** Неблагоприятный эффект, возникающий после повторного или постоянного введения исследуемой пробы в течение большей части продолжительности жизни.

Примечание — Исследования хронической токсичности обычно длятся от 6 до 12 мес.

3.11 **исследуемый образец:** Материал, изделие, часть изделия, компонент, экстракт или его порция, подвергаемые биологическому или химическому тестированию или оценке.

4 Основные требования

4.1 Общие положения

Выбор приемлемого исследования или исследований изделия проводится в соответствии с ИСО 10993-1, учитывая характер и длительность контакта. Исследование проводят на конечном продукте и/или представительных образцах компонентов готового изделия и/или материалов. Исследуемые образцы должны отражать условия обычного производства и обработки изделия. Если отклонения необходимы, они должны быть отмечены в отчете исследования вместе с их обоснованием. В целях определения опасности может быть необходимо преувеличение введения исследуемых образцов.

При планировании исследования необходимо рассмотреть такие факторы, как физические и химические свойства испытуемого образца, включая, например, pH, стабильность, вязкость, осмоляльность, буферные качества, растворимость и стерильность.

При рассмотрении исследований на животных необходимо определить и внедрить все разумно и практически доступные альтернативы замены, сокращения и усовершенствования для соответствия положениям ИСО 10993-2. Для исследования острой токсичности *in vivo* данные цитотоксичности *in vitro* полезны для определения начальных доз [9].

4.2 Выбор вида животных

Не существует абсолютного критерия выбора определенного вида животных для исследования системной (общей) токсичности медицинских изделий. Тем не менее, выбор используемых видов должен быть научно обоснован и соответствовать положениям ИСО 10993-2. Мыши или крысы предпочтительны для острых оральных, внутривенных, дермальных и ингаляционных исследований медицинских изделий; кролики являются вариантом при дермальных и имплантационных исследованиях. Виды, не относящиеся к грызунам, также могут применяться для исследования с учетом того, что ряд факторов может повлиять на число особей для исследования.

Предпочтительно использование животных одного вида при проведении серии исследований системной токсичности различной длительности, например, острой, подострой, субхронической и/или хронической системной токсичности. Такой подход контролирует внутривидовую изменчивость и способствует оценке исключительно по длительности исследования. При использовании животных разных видов необходимо отразить документально обоснование их выбора.

4.3 Статус животных

Как правило, необходимо использовать здоровых, специально выведенных, молодых половозрелых животных известного происхождения, не инфицированных. В начале исследования вариантность массы используемых животных для каждого пола не должна превышать ± 20 % средней массы. Используемые самки должны быть не рожавшими и не беременными. Выбор животных должен быть обоснован.

4.4 Уход и содержание животных

Уход и обращение с животными должны соответствовать принятым руководствам по содержанию животных. Необходимо акклиматизировать животных к условиям лаборатории до обработки и зафиксировать этот период времени документально. Контроль условий окружающей среды и методов надлежащего ухода за животными необходим для получения значимых результатов. Необходимо должным образом охарактеризовать составляющие диеты и подстилок, о которых известно, что они вырабатывают или влияют на токсичность, а также учитывать их потенциальное влияние на результаты исследования.

4.5 Размер и число групп

4.5.1 Размер групп

Точность исследования системной токсичности зависит в большой степени от числа используемых животных на уровень дозы. Степень необходимой точности и, в свою очередь, необходимое число животных на группу дозирования зависят от цели исследования.

Число животных в группе должно логически увеличиваться при увеличении длительности эксперимента, так что к концу исследования в каждой группе должно присутствовать достаточное число животных для тщательной биологической оценки. Тем не менее, необходимо использовать минимальное число животных, требуемое для получения значимых результатов (см. ИСО 10993-2). Рекомендуемые минимальные размеры групп, учитывая виды исследования, приведены в таблице 1.

Таблица 1 — Рекомендуемые минимальные размеры групп

Вид исследования	Грызуны	Не грызуны
Острый[a)]	5	3
Подострый	10 (5 на пол)[a)]	6 (3 на пол)[a)]
Субхронический	20 (10 на пол)[a)]	8 (4 на пол)[a)]
Хронический	40 (20 на пол)[b), c)]	[c)]

[a)] Допустимо исследование на особях одного пола. Если изделие предназначено для эксплуатации только одним полом, исследование должно проводиться на животных этого пола.

[b)] Рекомендация относится к исследованию группы уровня одной дозы. При включении дополнительных групп с увеличенными дозами рекомендуемый размер группы может быть снижен до 10 особей для каждого пола.

[c)] Рекомендуется экспертная статистическая консультация для размера группы хронического исследования. Число исследуемых животных должно основываться на минимально требуемом для предоставления значимых данных. После окончания исследования должно оставаться достаточное число животных для обеспечения надлежащей статистической оценки результатов.

4.5.2 Число групп

Группа одной дозы, получающая приемлемую дозировку испытуемого образца, в рамках одного вида может обозначить наличие или отсутствие токсической опасности (т. е. отношение доза — ответ). Тем не менее, для определения токсического ответа в других многодозовых исследованиях или исследованиях дозового ответа требуется несколько групп.

Число групп может увеличиваться при увеличении дозы. Необходимо учитывать следующие примеры увеличенной дозы:

- многократное воздействие на площадь клинической поверхности;
- многократная длительность введения;
- многократная доля экстракта или отдельных химических веществ;
- многократные введения в течение 24 ч.

Могут быть допустимы другие методы увеличения дозы. Используемый метод должен быть обоснован.

4.5.3 Группы контроля

В зависимости от цели исследования, характера предмета исследования и пути введения при исследовании системной токсичности необходимы: отрицательный контроль, контроль модельной среды, наполнителя, доставки и/или необработанный (ложный) контроль. Эти методы контроля должны использовать идентичные подготовку испытуемого образца и процедуру введения.

4.6 Путь введения

Медицинские изделия или их вымываемые вещества могут различно воздействовать на организм. Исследуемый путь введения изделия в организм, по возможности, должен быть наиболее приближен к использованию в клинической практике. Если необходим альтернативный путь введения, он должен быть обоснован. Примеры путей введения приведены в приложении А.

4.7 Подготовка образца

Руководство по подготовке образца и стабильности приведено в ИСО 10993-12.

4.8 Дозирование

4.8.1 Введение исследуемого образца

Процедуры введения следует проводить с учетом физиологических особенностей, избегая нанесения ущерба здоровью животных, не связанных напрямую с токсичностью исследуемого материала. Если ежедневно вводимая доза или концентрация превышает возможности введения, дозу можно вводить меньшими долями в период, не превышающий 24 ч.

Исследуемые образцы следует вводить при физиологически приемлемой температуре. В общей практике, как правило, применяется комнатная температура или температура тела. Отклонения должны быть обоснованы.

Наполнители, вводимые парэнтерально, должны быть физиологически совместимыми. При необходимости можно использовать фильтрацию образца для удаления частиц и отразить это документально.

Механическое ограничение движения животных при повторном воздействии в исследованиях системной токсичности должно, как правило, ограничиваться 4—6 ч в сут. Характер и длительность двигательного ограничения животных должны быть минимально требуемыми для достижения научных целей и не должны сами по себе наносить ущерб здоровью исследуемых животных. Отклонения должны быть обоснованы.

Если двигательное ограничение необходимо, животные должны быть акклиматизированы к ограничивающему устройству до введения исследуемого образца.

4.8.2 Объемы дозирования

Руководство по объему дозирования приведено в приложении В. При использовании нескольких дозовых групп вариантность исследуемого объема может быть сведена до минимума путем регулирования концентрации для обеспечения постоянного объема при всех дозах. Использование объемов дозирования, превышающих приведенные в приложении В, должно быть обосновано.

Необходимо избегать введения оральным путем доз больших объемов, так как было показано, что они перегружают вместимость желудка и немедленно поступают в тонкий кишечник. Дозы больших объемов могут вернуться в пищевод.

Внутримышечное введение также ограничено по объему в зависимости от размеров животного и расположения мышцы. Объемы внутримышечного введения по видам рассмотрены в приложении В.

Болюсное внутривенное вливание обычно вводят за короткий период времени течением примерно за 1 мин. Скорость инъекции является важным фактором, и рекомендуется, чтобы для грызунов эта скорость не превышала 2 мл/мин.

Для введения большого объема может потребоваться медленная или рассчитанная по времени инъекция или внутривенная инфузия. Если животное подает признаки явного изменения клинического состояния, скорость введения жидкости должна быть остановлена или снижена вне зависимости от рассчитанной скорости.

Для исследуемых образцов, ограниченных растворимостью или раздражающим действием, может быть необходима медленная внутривенная инъекция.

При клинических показаниях можно использовать продолжительную/постоянную инфузию. Объем и скорость введения будут зависеть от вводимого вещества, принимая во внимание стандартную практику жидкостной терапии. В качестве руководства единовременно вводимый объем должен составлять менее 10 % объема циркулирующей крови за 2 ч. При длительной инфузии ключевым фактором к рассмотрению является минимально эффективное двигательное ограничение исследуемых животных.

Объемы дозирования при подкожном введении приведены в приложении В. Скорость и степень абсорбции зависят от состава испытуемого образца.

4.8.3 Частота дозирования

Частота дозирования должна основываться на клинической значимости. Увеличение числа процедур должно быть четко обосновано и описано.

При исследованиях острой системной токсичности животных подвергают воздействию однократной дозы или ее многократными долями, вводимыми в течение 24 ч.

При исследованиях многократного введения животные должны получать исследуемую дозу ежедневно, в течение недели, всю продолжительность исследования. Другие режимы дозирования могут быть приемлемы, но должны быть обоснованы.

4.9 Масса тела и потребление пищи/воды

Исследуемый объект может вызвать изменения в массе тела животного и в потреблении им пищи и воды. Следовательно, необходимо определять индивидуальную массу каждого животного незадолго до введения испытуемого образца (например, обычно в пределах 24 ч при однократном или остром дозировании и не более чем 7 сут при исследованиях повторного введения), через регулярные интервалы в течение исследования и по окончании исследования. При дозировке по массе тела необходимо использовать самые последние измерения.

При более длительных исследованиях многократного введения должно быть определено количество потребляемой животным пищи и воды.

4.10 Клинические наблюдения

Клинические наблюдения должны проводить подготовленные лица для обеспечения последовательной отчетности. Частота и длительность наблюдения должны определяться характером и серьезностью токсических реакций, скоростью проявления симптомов и периода восстановления. Повышенная частота наблюдения может быть необходима на ранних стадиях исследования, особенно при острых исследованиях. Время появления и исчезновения признаков токсичности, их длительность и время смерти являются важными, особенно если неблагоприятные клинические признаки или смерть имеют тенденцию проявляться позднее. Во избежание ненужных страданий необходимо применять гуманные конечные точки. Общие клинические наблюдения должны учитывать пиковый период ожидаемых эффектов после дозирования.

Наблюдения должны систематически фиксироваться документально по мере их ведения. Отчетность должна быть проведена по каждому животному.

Визуальные наблюдения должны быть записаны, как минимум, один раз в день, с использованием общепринятых лабораторных признаков регистрации клинических эффектов (см. приложение С).

Наблюдаемая болезненность или смертность при повторном введении должна быть зафиксирована документально не менее двух раз в день. При более продолжительных исследованиях повторного введения может быть рассмотрен более обширный, как минимум, еженедельный скрининг токсических эффектов.

4.11 Клиническая патология

Для исследования токсических эффектов на тканях, органах и других системах проводят анализы гематологических и биохимических показателей. По показаниям эти анализы должны проводиться на пробах крови животных, используемых в исследовании повторного введения, полученных, по меньшей мере, непосредственно перед запланированной процедурой эфтаназии животных или как часть таковой процедуры. В некоторых случаях может быть необходимо голодание животных перед забором крови. Если существуют научные показания, в течение последней недели долгосрочного исследования при многократном введении может быть проведен анализ мочи с использованием рассчитанного по времени (например, от 16 до 24 ч) сбора объема мочи.

Рекомендуемые для оценки параметры гематологии, биохимии и анализа мочи приведены в приложении D.

4.12 Патологоанатомические исследования

По окончании исследований острой системной токсичности необходимо провести патологоанатомическую оценку.

Все животные должны быть подвергнуты вскрытию с полным и подробным макроскопическим обследованием, включающим тщательное обследование внешних покровов тела, всех отверстий, а также черепной, грудной и брюшной полостей и их содержимого. Органы, избранные для взвешивания, по возможности должны быть очищены от прилегающих тканей, и их масса во влажном состоянии должна быть измерена как можно быстрее во избежание высыхания.

В приложении Е приведен список тканей, которые необходимо взвесить и сохранить в приемлемой фиксирующей среде для патогистологического исследования.

Список минимальных параметров для исследования каждого типа приведен в таблице 2.

Таблица 2 — Список наблюдений

Наблюдение	Острое	Подострое	Субхроническое/ хроническое[a)]
Изменение массы тела	+	+	+
Клинические наблюдения	+	+	+
Клиническая патология	[b)]	a), b)	+
Макроскопическая патология	[b)]	+	+
Масса органов	[b)]	+	+
Гистопатология	[b)]	a), b)	+

[a)] Исследование хронической системной токсичности обычно является продолженным во времени субхроническим исследованием, обоснованным периодом воздействия на человека. Отмечается и отражается документально большинство тех же параметров. Размеры групп могут быть увеличены для включения параллельных групп, для которых проводят все или некоторые из этих наблюдений.

[b)] Необходимо учитывать эти параметры при клинических показаниях или в случае, если исследование более длительного введения не планируется. Списки рекомендуемых анализов крови и органов/тканей приведены в приложениях D и E.

4.13 Планирование исследований

Планы исследований приведены в последующих разделах настоящего стандарта. Для составления плана исследования рекомендуется консультация эксперта.

4.14 Качество исследований

Нормы надлежащей лабораторной практики относятся к организации, процессу и условиям, при которых лабораторные исследования планируются, проводятся, контролируются, фиксируются документально и описываются в отчете. Эти нормы предназначены для обеспечения качества и значимости данных исследований. Они также поддерживают глобальные усилия по гармонизации путем способствования заключению меморандумов о взаимопонимании между странами торговыми партнерами. Исследования системной токсичности должны проводиться в соответствии с такими принципами.

5 Острая системная токсичность

5.1 Общие положения

Исследование острой системной токсичности предоставляет общую информацию об опасности острого воздействия применения медицинского изделия. Исследование острой токсичности может быть первым шагом в установлении режима дозирования для подострых/субхронических и других исследований и может предоставить информацию о способе токсического действия вещества в зависимости от его клинического применения. При исследовании острой системной токсичности после введения испытуемого образца ведется наблюдение за возникающими эффектами (например, неблагоприятные клинические признаки, изменение массы тела, обнаружение макроскопической патологии) и смертельными случаями. Животные с серьезными и устойчивыми признаками страданий и боли должны быть немедленно подвергнуты эвтаназии. Коррозионные или раздражающие материалы, о которых известно, что они вызывают явную боль или страдание, должны быть отмечены в отчете как таковые и не нуждаются в тестировании.

Примечание — ICCVAM и ECVAM в настоящее время утверждают исследования цитотоксичности *in vitro* как альтернативу исследованиям острой токсичности.

5.2 Планирование исследования

5.2.1 Подготовка

Здоровые молодые половозрелые животные акклиматизируются к лабораторным условиям, по меньшей мере, в течение 5 сут до исследования. Более короткие сроки должны быть обоснованы. Животных рандомизируют и распределяют по группам обработки.

5.2.2 Лабораторные животные

5.2.2.1 Выбор вида

Обычно используют грызунов (крыс, мышей). Характеристики модели (возраст, масса и т. д.) описаны в 4.2 и 4.3. Использование видов, не являющихся грызунами, должно быть научно обосновано.

5.2.2.2 Число и пол

Число и тип групп, число животных в группе и их пол описаны в 4.5.

5.2.2.3 Условия размещения и кормления

Температура и относительная влажность в помещениях для экспериментальных животных должны соответствовать виду, например, температура (22 ± 3) °С и влажность от 30 % до 70 % для мышей. Режим искусственного освещения должен быть 12 ч света и 12 ч темноты.

Для кормления можно использовать стандартные коммерческие лабораторные корма и неограниченный доступ к питьевой воде. Животные должны размещаться в клетках группами по полу или, по возможности, индивидуально, при групповом размещении допустимо помещать не более чем пять животных в одну клетку.

5.2.3 Условия исследования

5.2.3.1 Уровни доз

Уровни доз должны соответствовать описанным в 4.8.

Обращение с животными контрольной группы должно быть идентично обращению с животными опытной группы за исключением введения испытуемого образца.

5.2.3.2 Процедура

Животные получают однократную дозу испытуемого образца или, если необходимо, многократные дозы в течение одного 24-часового периода. Признаки токсичности должны быть отражены документально по мере наблюдения, включая их начало, степень и длительность.

Необходимо регулярное наблюдение за животными для предотвращения случаев падежа исследуемых животных из-за каннибализма, автолиза тканей или побега. По окончании исследования все выжившие животные должны быть подвергнуты эвтаназии. Любые болезненные животные должны быть удалены и должны быть подвергнуты эвтаназии, если замечены признаки такого поведения.

Расписание наблюдения и применяемые гуманные конечные точки должны предотвратить случаи обнаружения животных мертвыми непосредственно в результате токсичности испытуемого образца.

5.2.4 Масса тела

Измерения массы тела должны проводиться непосредственно перед дозированием, ежедневно в течение первых трех суток после дозирования, еженедельно после первой дозы, если длительность исследования это позволяет, и по окончании исследования.

5.2.5 Клинические наблюдения

Для исследования острой системной токсичности период наблюдения должен составлять не менее трех суток или более, если это признано приемлемым. Детали частоты и типа наблюдения описаны в 4.10 и приложении С. Во всех случаях наблюдение должно проводиться с достаточной частотой, а также должны предприниматься определенные действия для сведения к минимуму потерь среди исследуемых животных, например, вскрытие или рефрижерация животных, найденных мертвыми, и изоляция или умерщвление слабых или болезненных животных. Визуальные наблюдения должны включать в себя следующие обязательные факторы: изменения кожи и шерсти, глаз и слизистых оболочек, а также изменения в периферической и центральной нервных системах, дыхательной и кровеносной системах, в соматомоторной деятельности и в схемах поведения, используя дескрипторы, приведенные в приложении В.

5.2.6 Патология

5.2.6.1 Клиническая патология

Проведение оценки клинической патологии должно быть рассмотрено при наличии клинических показаний. Необходимо провести следующие исследования:

a) гематология, как описано в приложении D, должна рассматриваться для исследования по окончании периода испытания;

b) по окончании периода испытания необходимо рассмотреть возможность клинического биохимического исследования крови, приведенного в приложении D. Областями испытаний, приемлемыми для исследования острого введения, считаются функции печени и почек. При необходимости может быть использована дополнительная клиническая биохимия для продления наблюдения за отмеченными эффектами.

Анализ мочи на регулярной основе не обязателен и должен проводиться только при показаниях, основанных на ожидаемой или наблюдаемой токсичности. Рекомендуемые параметры приведены в приложении D.

5.2.6.2 Патологоанатомические исследования

Патологоанатомические исследования должны проводиться в конце эксперимента после эвтаназии животных. Они включают в себя осмотр внешних покровов тела, всех отверстий, а также черепной коробки, грудной и брюшной полостей и их содержимого. По применимости необходимо рассмотреть учет массы мозга, печени, почек, надпочечников и семенников, которые должны быть взвешены во влажном состоянии как можно скорее после вскрытия во избежание высыхания и последующих ложно низких значений.

5.2.6.3 Гистологические исследования

При исследованиях острой системной токсичности обычно не проводятся полные гистологические исследования на органах и тканях животных, если это особо не показано необычными обнаружениями общего вскрытия.

5.3 Критерии оценки

5.3.1 Общие положения

В зависимости от используемого плана исследования применимы следующие критерии оценки:

a) для исследования фармакопейного типа:

- если во время периода наблюдения острой системной токсичности ни одно из животных, обработанных исследуемым образцом, не демонстрирует значимо большую биологическую реактивность, чем животные, обработанные контрольной средой, образец отвечает требованиям этого испытания;
- при использовании пяти животных, если два или более животных умирают или такое поведение, как конвульсии или прострация, наблюдается у двух или более животных, либо происходит потеря массы тела более 10 % у трех или более животных, образец не отвечает требованиям испытания;
- если любое животное, обработанное образцом, демонстрирует только легкие признаки биологической реактивности и не более чем одно животное проявляет явные симптомы биологической реактивности или умирает, испытание нужно повторить, используя группы по десять животных;
- если при повторном исследовании все десять животных, обработанных образцом, в период наблюдения не проявляют какой-либо научно значимой биологической реактивности по сравнению с животными, обработанными контрольной средой, образец отвечает требованиям этого испытания.

b) для исследований острой системной токсичности нефармакопейного типа.

Существует возможность проведения оценки с использованием более обширных методов, включая клиническую и анатомическую патологии, которые могут снять необходимость повторного испытания. Острое воздействие может включать в себя переоценку при наличии неоднозначных различий в сопутствующих контрольных группах. Различия должны быть объяснены, а исследование должно быть продлено для включения дополнительных пяти животных, если применимо.

5.3.2 Оценка результатов

Обнаруженные токсические эффекты во время исследования острой системной токсичности должны быть сопоставлены с отрицательными эффектами предшествующих исследований, если таковые существуют. Оценка должна включать в себя определение взаимоотношения между дозой испытуемого вещества и наличием или отсутствием, а также случайностью и степенью серьезности различных отклонений, включая поведенческие и клинические отклонения, макроскопические повреждения, изменения массы тела, влияние на смертность и любые другие общие или конкретные эффекты.

5.4 Заключительный отчет

В заключительном отчете об испытании острой системной токсичности должна содержаться следующая информация:

a) испытуемое вещество:

- физический характер, чистота и физико-химические свойства, по применимости;
- другие идентифицирующие данные;

b) модельная среда (если применимо);

- обоснование выбора модельной среды, если она не включена в список, приведенный в ИСО 10993-12;

c) экспериментальные животные:

- используемый вид/линия;
- число, возраст и пол животных;
- источник, включая микробиологический статус (например, с повышенным барьером, обычный), условия содержания (температура, влажность, подстилка, освещение, диета и.т. д.);
- масса в начале исследования;

d) условия исследования:

- обоснование выбора дозы;

- подробности состава/приготовления испытуемого вещества; достигнутые концентрации; стабильность и гомогенность, если применимо;
- детали введения испытуемого вещества;
- пересчет из концентрации испытуемого вещества в реально вводимую дозу (мг/кг), если применимо;
- подробности качества пищи, воды и подстилки;

e) результаты:

- данные могут быть обобщены в форме таблицы, показывающей число животных в начале испытания, число животных, проявляющих неблагоприятные клинические признаки, и число животных с изменениями массы тела для каждой контрольной и испытуемой группы;
- масса тела/изменения массы тела;
- потребление пищи и воды, если применимо;
- данные токсического ответа, распределенные по полу и уровню дозы, включая признаки токсичности;
- характер, серьезность и длительность клинических наблюдений (обратимых и нет);
- нейроповеденческая оценка, если применимо;
- использованные гематологические исследования и результаты с соответствующими фоновыми данными, если применимо;
- использованные исследования клинической биохимии и результаты с соответствующими фоновыми данными, если применимо;
- анализы мочи и результаты с соответствующими фоновыми данными, если применимо;
- конечная масса тела и данные массы органов, если применимо;
- результат вскрытия;
- подробное описание всех обнаруженных гистопатологий, если применимо;
- статистическая оценка результатов, если использовалась, и обсуждение их биологической значимости;

f) обсуждение результатов;

g) заключения;

h) заявление о гарантии качества.

Исследование острой системной токсичности предоставляет информацию об эффектах острого введения испытуемого вещества. Экстраполяция результатов исследования на человека действительна в ограниченной степени, но она может предоставить полезную информацию о допустимом воздействии.

6 Системная токсичность многократного введения (подострая, субхроническая и хроническая системная токсичность)

6.1 Общие положения

В то время как острая токсичность связана с неблагоприятными эффектами однократных доз (или ограниченного введения), более распространенной формой введения многих медицинских изделий на человека является повторное или продолжительное воздействие. Эффект от повторного или многократного введения потенциально может возникнуть по причине накопления химических веществ в тканях или под действием других механизмов, поэтому важно определить все потенциальные для этого факторы путем долгосрочных испытаний (подострых, субхронических, хронических).

Исследования системной токсичности многократного введения дают информацию об опасности для здоровья, которая может возникнуть после длительного введения предназначенным клиническим путем. Они также могут дать информацию о способе токсического действия вещества предназначенным клиническим путем введения.

Исследования системной токсичности многократного введения дают подробную информацию о токсических эффектах, органах-мишенях, обратимости или других эффектов и могут служить основой для оценки безопасности. Результаты этих исследований предоставляют важную информацию, что подтверждается подробными инструкциями по проведению клинических и анатомических исследований патологии.

Исследования многократного введения обычно не предоставляют критерия повторного испытания. Вместо этого размеры групп рассчитаны с учетом статистической оценки зафиксированных наблюдений (см. таблицу 1).

Из-за различной продолжительности исследований многократного введения исследуемые образцы должны приготовляться по потребности для гарантии их стабильности.

6.2 Планирование исследования

6.2.1 Подготовка

Здоровые молодые половозрелые животные должны быть акклиматизированы к лабораторным условиям по меньшей мере в течение 5 сут до исследования. Животные должны быть рандомизированы и распределены по группам.

6.2.2 Лабораторные животные

6.2.2.1 Выбор вида

Обычно используют грызунов (крыс, мышей). Характеристики модели (возраст, масса и т. д.) описаны в 4.2 и 4.3. Использование видов, не являющихся грызунами, должно быть научно обосновано.

6.2.2.2 Число и пол

Число и тип групп, число животных в группе и их пол описаны в 4.5.1. При научном обосновании необходимо рассмотреть возможность использования параллельных групп, с увеличенной дозой введения, наряду с контрольными группами. Эта группа и ее контроль могут использоваться для изучения эффекта введения, включая обратимость (резорбтивное действие), выносливость или замедленный токсический эффект. Для субхронических исследований необходимо содержать животных-сателлитов на срок не менее чем 28 сут

6.2.2.3 Условия размещения и кормления

Температура и относительная влажность в помещениях для экспериментальных животных должны соответствовать виду, например, температура (22 ± 3) °С и влажность от 30 % до 70 % для крыс. Режим искусственного освещения должен быть 12 ч света и 12 ч темноты.

Для кормления можно использовать стандартные коммерческие лабораторные корма и неограниченный доступ к питьевой воде. Животные должны размещаться в клетках группами, по полу или, по возможности, индивидуально; при групповом размещении допустимо помещать не более чем пять животных в одну клетку.

6.2.3 Условия исследования

6.2.3.1 Уровни доз

Изучение эффектов доза — ответ в исследовании системной токсичности многократного введения требует использования нескольких групп. Уровни доз должны соответствовать описанному в 4.8.

Используемая доза в исследованиях токсичности медицинских изделий должна определяться в соответствии с результатами оценки риска, уравновешивая дозу клинического введения с использованием факторов безопасности по применимости. Для более длительных исследований необходимо предпринять усилия для включения, по меньшей мере, трех уровней дозы и соответствующих контрольных групп. За исключением обработки исследуемым образцом, обращение с животными контрольной группы должно быть идентично обращению с животными исследуемой группы.

В отличие от классических химических исследований системной токсичности повторного введения, исследования многократного введения, использующие медицинские изделия, часто не дают эффекта доза — ответ; таким образом, токсический эффект при наивысшем уровне дозы необязателен. Тем не менее, использование диапазона доз предоставляет полезную информацию об уровнях безопасности для человека.

6.2.3.2 Процедура

В идеальном варианте животные получают дозу испытуемого образца ежедневно в течение недели на весь период продолжительности исследования. Для более длительных исследований с многократным воздействием допустимо введение дозы в течение пяти суток в неделю, но это должно быть отражено документально и обосновано.

6.2.4 Масса тела

Измерения массы тела должны проводиться непосредственно перед дозированием, еженедельно после первой дозы, если это позволяет длительность исследования, и по окончании исследования.

6.2.5 Клинические наблюдения

Период наблюдения для исследования системной токсичности многократных доз должен соответствовать длительности исследования. Детали частоты и типа наблюдения описаны в 4.10 и приложении С. Во всех случаях наблюдение должно проводиться с достаточной частотой, а также должны предприниматься определенные действия для сведения к минимуму потерь среди исследуемых животных, например, вскрытие или рефрижерация животных, найденных мертвыми, и изоляция или умерщвление слабых или болезненных животных. Визуальные наблюдения должны обязательно включать в себя следующие факторы: изменения кожи и шерсти, глаз и слизистых оболочек, а также изменения в периферической и центральной нервных системах, дыхательной и кровеносной системах, в

соматомоторной деятельности и в схемах поведения, используя дескрипторы, приведенные в приложении С.

Обычно перед введением испытуемого вещества и по окончании исследования необходимо провести офтальмологический осмотр с использованием офтальмоскопа или эквивалентного приемлемого оборудования, предпочтительно всех животных, но, по меньшей мере, групп высокой дозы и контроля. При обнаружении изменений в глазах необходимо осмотреть всех животных. Решение не проводить осмотр должно быть отражено документально и обосновано.

6.2.6 Патология

6.2.6.1 Клиническая патология

Необходимо провести следующие исследования:

a) гематология, как описано в приложении С, должна быть исследована по окончании периода испытания. В зависимости от длительности исследования необходимо рассмотреть более частый забор проб;

b) биохимическое исследование крови должно проводиться по окончании периода испытания. В зависимости от длительности исследования необходимо рассмотреть более частый забор проб. Областями испытаний, приемлемыми для всех исследований многократного введения, считаются электролитный баланс, метаболизм углеводов и функция печени и почек. Выбор определенных исследований может зависеть от наблюдений за способом действия испытуемого вещества. Список рекомендуемых анализов приведен в приложении D. При необходимости может быть использована дополнительная клиническая биохимия для продления наблюдения за отмеченными эффектами.

Анализ мочи на регулярной основе необязателен, должен проводиться только при показаниях, основанных на ожидаемой или наблюдаемой токсичности. Рекомендуемые параметры приведены в приложении D.

Полученные ранее нормальные значения пригодны для установления фоновых уровней и для сравнения с сопутствующими контрольными группами исследования. Если ранее полученные фоновые данные сочтены неадекватными, необходимо рассмотреть возможность сбора этой информации для животных того же возраста, пола, линии и источника, предпочтительно в той же лаборатории.

6.2.6.2 Патологоанатомические исследования

Все животные должны быть подвергнуты полному общему вскрытию, включающему в себя осмотр внешних покровов тела, всех отверстий, а также черепной коробки, грудной и брюшной полостей и их содержимого. Надпочечники, мозг, эпидидимисы, сердце, почки, печень, яичники, селезенка, семенники, тимус и матка должны быть взвешены во влажном состоянии как можно скорее после вскрытия во избежание высыхания и последующих ложно низких значений. Органы и ткани, перечисленные в приложении Е, должны сохраняться в приемлемой среде для возможного будущего гистопатологического анализа.

6.2.6.3 Морфологические исследования:

a) необходимо провести полную морфологию на органах и тканях животных контрольной группы и группы высокой дозы;

b) все макроскопические повреждения должны быть осмотрены;

c) легкие животных в группах с низкой и средней дозами, если таковые использовались, должны быть подвергнуты гистологическому исследованию на предмет инфекции, так как это позволяет оценить состояние здоровья животных. Также необходимо рассмотреть проведение гистологического исследования печени и почек в этих группах. Дальнейшее гистологическое исследование животных этих групп обычно может не требоваться, но обязательно для органов, проявляющих признаки макроскопического повреждения в группе высокой дозы;

d) при использовании группы сателлитов гистология может проводиться на тканях и органах, определенных в обработанных группах как проявившие результаты эффекта;

e) как правило, в хронических исследованиях необходимо использовать животных-индикаторов для контроля возможности инфекционных агентов. По показаниям могут проводиться серологические или гистологические исследования групп животных-сателлитов.

6.3 Критерии оценки

6.3.1 Общие положения

Данные могут быть обобщены в форме таблицы, показывающей число животных в начале испытания, число животных, проявляющих патологические изменения, типы изменений и процент животных, проявляющий изменения каждого типа. Необходимо провести статистическую оценку, но в первую очередь учитывать биологическую значимость. Допустимо использовать любые общепринятые статистические методы; статистические методы необходимо выбирать при планировании исследования.

6.3.2 Оценка результатов

Обнаруженные эффекты от исследования многократного введения должны быть оценены совместно с обнаруженными эффектами предшествующих исследований и рассмотрены с точки зрения токсических эффектов и выявленных отклонений при вскрытии и гистологии. Оценка должна включать в себя взаимоотношения между дозой испытуемого вещества и наличием или отсутствием, а также случайностью и степенью серьезности различных отклонений, включая поведенческие и клинические отклонения, макроскопические повреждения, микроскопические изменения, установленные в органах-мишенях, влияние на смертность и любые другие общие или конкретные эффекты.

6.4 Заключительный отчет

Информация, приведенная в 5.4, должна содержаться в заключительном отчете исследования системной токсичности повторного введения. Дополнительно необходимо предоставить следующую информацию:

- использованные гематологические исследования и результаты с соответствующими фоновыми данными;
- использованные исследования клинической биохимии и результаты с соответствующими фоновыми данными;
- результаты гистологии;
- статистическую оценку результатов, если использовалась, и обсуждение их биологической значимости.

Исследование долгосрочной системной токсичности предоставляет информацию об эффектах повторного введения испытуемого вещества. Экстраполяция результатов исследования на человека действительна в ограниченной степени, но она может предоставить полезную информацию о допустимом воздействии на человека.

Приложение А
(справочное)

Пути введения

А.1 Общие положения

Некоторые пути введения перечислены в А.2—А.10. Другие пути введения могут быть более клинически значимы и, в таком случае, должны быть использованы. Необходимо использовать наиболее подходящий путь введения. Использование альтернативного пути введения должно быть обосновано. При моделировании приемлемых исследований рекомендуется консультация эксперта.

А.2 Дермальный путь введения

Исследование системной токсичности дермально может быть приемлемо для наружных изделий. Необходимо учитывать ограничение орального доступа животного к испытуемому образцу.

А.3 Имплантация

Исследования системной токсичности путем имплантации могут быть приемлемы для имплантируемых изделий. Исследование может быть приемлемо для непосредственного испытания материала путем применения к общему или конкретному участку. Необходимо принять во внимание форму и структуру предмета испытания. Методы имплантации приведены в ИСО 10993-6.

А.4 Ингаляция

Исследования системной токсичности путем ингаляции могут быть приемлемы для изделий с контактной средой, благоприятной для возникновения летучих химических паров, или для испытуемого образца аэрозоля/частиц с ингаляционным потенциалом. Детали протокола этого пути введения приведены в большинстве источников по ингаляционной токсикологии.

А.5 Внутрикожный путь введения

Исследования системной токсичности внутрикожным путем могут быть приемлемы для изделий, контактирующих внутрикожно. Испытуемые образцы обычно вводят непосредственно во внутрикожную область путем инъекции. Использование нескольких участков обработки должно быть четко описано и обосновано.

А.6 Внутримышечный путь введения

Исследования системной токсичности внутримышечным путем могут быть приемлемы для изделий, контактирующих с мышечной тканью, которая способствует вымыванию химических веществ. Испытуемые образцы обычно вводят непосредственно в мышечную ткань путем инъекции или хирургической имплантации. Участки должны быть выбраны с учетом сведения к минимуму потери функции или вероятности боли по причине повреждения нерва, вызванного напряжением мышечного волокна инъекцией или имплантацией испытуемого образца. При исследованиях повторной дозы участки необходимо чередовать, так как, например, неводные соединения могут образовывать накопления в течение более 24 ч. Использование нескольких участков обработки должно быть четко описано и обосновано.

А.7 Внутрибрюшинный путь введения

Исследования системной токсичности внутрибрюшинным путем могут быть приемлемы для изделий, контактирующих с брюшной полостью, которая способствует вымыванию химических веществ. Это также является приемлемым путем, если экстракт не должен вводиться внутривенно, например, при использовании вытяжки неполярных масел или при возможном наличии частиц. Такой путь введения предпочтителен фильтрованию для внутривенной инъекции. Испытуемые образцы обычно вводят непосредственно в брюшную полость. При вычислении частоты дозы необходимо учитывать, что предметы исследования, вводимые этим путем, абсорбируются, в основном, портальной циркуляцией и, таким образом, до поступления в общее кровообращение, должны пройти через печень. Необходимо принять меры для избежания инъекции в желудок или кишечник.

А.8 Внутривенный путь введения

Исследования системной токсичности внутривенным путем могут быть приемлемы для изделий, контактирующих с кровью. Испытуемые образцы обычно помещают или непосредственно вводят в сосудистую систему. При наличии частиц необходимо рассмотреть доставку внутрибрюшинным путем или фильтрацию образца. Рекомендуемые объемы доз и скорость введения для внутривенных исследований наиболее часто используемых видов лабораторных животных приведены в приложении В.

Необходимо приложить усилия для сведения к минимуму вероятности излишней сосудистой инъекции испытуемого образца. Для инъекции, занимающей 5 мин и более, необходимо рассмотреть использование иглы-«бабочки» или внутривенного катетера (канюли).

А.9 Оральный путь введения

Исследования системной токсичности оральным путем могут быть приемлемы для изделий, прямо или косвенно контактирующих со слизистой ротовой полости, или для продукции с другим энтеральным применением. Испытуемые образцы обычно вводятся через зонд. До введения испытуемого образца экспериментальные животные обычно должны голодать. Период голодания может быть от нескольких часов до одной ночи, с более короткими

периодами для животных с более высокой скоростью метаболизма. После периода голодания животные должны быть взвешены, после чего испытуемый образец вводят однократной дозой, основываясь на массе тела. После введения испытуемого образца прием пищи может быть отложен на дополнительные 3—4 ч. При введении дозы долями в течение определенного периода необходимо предоставлять животным пищу и воду в зависимости от длительности периода введения.

А.10 Подкожный путь введения

Исследования системной токсичности подкожным путем могут быть приемлемы для изделий с подкожной средой контакта. Испытуемые образцы обычно вводят непосредственно в подкожную область путем инъекции или имплантации. Использование нескольких участков обработки должно быть четко описано и обосновано.

Приложение В
(справочное)

Объемы дозирования

В.1 Общие положения

Принципы гуманных исследований на животных требуют, чтобы были предприняты все разумные меры по сведению к минимуму или устранению всех неблагоприятных физиологических или патологических эффектов. Значения, приведенные в таблице В.1, являются максимальными пределами, приведенными в научной литературе. В настоящем стандарте эти значения не должны восприниматься как рекомендации, но исследователи должны применять верхние пределы по отношению к таким факторам, как масса тела/площадь поверхности, скорость введения, физико-химические и биологические свойства испытуемого образца и чрезмерное использование животных. Необходимо предпринять усилия по сведению к минимуму объема дозы, одновременно учитывая эти факторы корректировки.

Таблица В.1 — Максимальные объемы дозировки для введения испытуемого образца

Вид	Подкожный, мл/кг	Внутримышечный, мл/кг	Внутрибрюшинный, мл/кг	Зондовый, мл/кг	Внутривенный, мл/кг
Крыса	20	1	20	50	40
Мышь	50	2	50	50	50
Кролик	10	1	20	20	10
Собака	2	1	20	20	10
Обезьяна	5	1	20	15	10
Примечание — Руководства отдельных стран могут изменять приведенные выше максимальные объемы. Обычно рекомендуется, чтобы внутримышечные введения для грызунов не превышали 0,1 мл/участок (мышь) и 0,2 мл/участок (крыса).					

В.2 Ссылки на объемы дозировки

См. библиографию, часть 2 [10]—[15].

Приложение С
(справочное)

Распространенные клинические признаки и наблюдения

Таблица С.1 — Распространенные клинические признаки и наблюдения

Клиническое наблюдение	Наблюдаемый признак	Задействованные системы
Респираторное	Затруднение дыхания (брюшное дыхание, одышка), остановка дыхания, цианоз, учащенное дыхание, выделения из ноздрей	Центральная нервная, легочная, сердечная
Двигательная активность	Повышенная/пониженная сонливость, потеря равновесия, потеря чувствительности, каталепсия, атаксия, необычное передвижение, прострация, тремор, фасцикуляция	Центральная нервная, соматомоторная, сенсорная, нервно-мышечная, автономная
Конвульсии	Клонические, тонические, тонические-клонические, асфиктические, опистотонус	Центральная нервная, нейромускульная, автономная, дыхательная
Рефлексы	Корнеальный, равновесие, миотатический, световой, рефлекс испуга	Центральная нервная, сенсорная, автономная, нейромускульная
Глазные признаки	Слезотечение, миоз, мидриаз, экзофтальмоз, птоз, помутнение, ирит, конъюнктивит, хромодакриорея, ослабление мигательной мембраны	Автономная, раздражение
Сердечно-сосудистые признаки	Брадикардия, тахикардия, аритмия, вазодилатация, вазоконстрикция	Центральная нервная, периферическая, сердечная, легочная
Слюноотделение	Избыточное	Местное воздействие
Пилолейомиома	Жесткая шерсть	Автономная
Аналгезия	Сниженная реакция	Центральная нервная, сенсорная
Мышечный тонус	Гипотония, гипертония	Автономная
Желудочно-кишечное	Мягкий стул, диарея, рвота, полиурия, ринорея	Центральная нервная, автономная, сенсорная, желудочно-кишечная моторика, почечная
Кожное	Эдема, эритема	Повреждение тканей, раздражение

Приложение D
(справочное)

Рекомендуемые параметры гематологии, клинической химии и анализа мочи

D.1 Гематология

- потенциал свертываемости (PT, APTT);
- концентрация гемоглобина;
- гематокрит;
- число тромбоцитов;
- число эритроцитов;
- число лейкоцитов;
- лейкоцитарная формула.

D.2 Клиническая химия

- альбумин;
- щелочная фосфатаза (ALP);
- аланинаминотрансфераза (ALT);
- аспарагиновая трансаминаза (AST);
- кальций;
- хлорид;
- холестерол;
- креатинин;
- гамма-глутамилтрансфераза (GGT);
- глюкоза;
- неорганический фосфор;
- калий;
- натрий;
- общий билирубин;
- общий белок;
- триглицериды;
- азот мочевины;
- дополнительные ферменты, если приемлемо с научной точки зрения;
- общие уровни иммуноглобулина могут быть рассмотрены как показатель иммунотоксичности.

D.3 Анализ мочи (сбор рассчитан по времени, например, с 16 до 24 ч)

- внешний вид;
- билирубин;
- глюкоза;
- кетоны;
- скрытая кровь;
- белок;
- осадок;
- специфичная плотность или осмомоляльность;
- объем;
- другие исследования, приемлемые с научной точки зрения, при наличии подозрений, что предмет исследования вызывает токсичность конкретных органов (обычно требуется сбор рефрижирированных проб).

Приложение Е
(справочное)

Список рекомендуемых органов для гистопатологической оценки

- надпочечники*;
- все макроскопические повреждения (включая участки обработки);
- аорта;
- костный мозг (бедренная кость, ребро или грудинная кость);
- мозг* (представительные секции, включая головной мозг, мозжечок и варолиев мост);
- слепая кишка;
- толстая кишка;
- двенадцатиперстная кишка;
- эпидидимисы (придатки яичка)*;
- пищевод;
- глаза;
- желчный пузырь (если в наличии);
- сердце*;
- подвздошная кишка;
- тонкая кишка;
- почки*;
- печень*;
- легкие и бронхи (сохраненные наполнением фиксатором и последующим погружением);
- лимфатические узлы (местные для участка введения и отдаленные для системных эффектов);
- молочные железы (для самок);
- мышцы (скелетные);
- ноздревые раковины (для ингаляционных исследований);
- нерв (седалищный или тибиальный, предпочтительно располагающийся вблизи мышцы);
- яичники*;
- поджелудочная железа;
- околощитовидная железа;
- гипофиз;
- простата;
- прямая кишка;
- слюнные железы;
- семенные пузырьки;
- кожа;
- спинной мозг;
- селезенка*;
- грудина;
- желудок;
- семенники*;
- тимус*;
- щитовидная железа;
- трахея;
- мочевой пузырь;
- матка* (включая шейку и трубы);
- влагалище.

Органы/ткани, отмеченные знаком «*», в дополнение к гистопатологической оценке должны быть взвешены, в то время как другие органы взвешиваются по научной применимости. Клинические и другие обнаружения могут показать необходимость исследования дополнительных тканей. Также необходимо сохранить любые органы, считающиеся вероятными органами-мишенями на основании известных свойств испытуемого вещества.

Необходимо провести полную гистологию сохраненных органов и тканей всех животных в группах контроля и наивысшей дозы. Эти исследования, направленные на конкретные органы/ткани, по необходимости, должны охватывать животных из всех других групп дозировки, если в группе наивысшей дозы наблюдаются изменения, связанные с воздействием.

Приложение F
(справочное)

Информация по пирогенам, опосредованным материалом

Пирогенность — это способность химического агента или другого вещества вызывать лихорадочную ответную реакцию. Пирогенные реакции могут быть опосредованы материалом, эндотоксином или другими веществами, такими как составляющие грамположительных бактерий и грибов. Настоящий стандарт относится к пирогенности, опосредованной материалом.

Исследование всех новых медицинских изделий на пирогенность *in vivo* не является необходимым. Тем не менее, материалы, содержащие новые химические соединения или вещества, которые ранее вызывали пирогенный ответ, должны быть оценены на предмет пирогенности, опосредованной материалом. Контаминация эндотоксинами может быть источником пирогенной реакции, которую следует отличать от пирогенной реакции, опосредованной материалом.

Пирогенность, опосредованная эндотоксином

Пирогенность этого типа, вызванная биологически активным эндотоксином грамотрицательных бактерий, являющимся примесью процесса производства медицинских изделий, обычно вызывает повышение температуры. Оценивается путем измерения количества эндотоксина в изделиях эндотоксин-специфичным LAL (лизат амебоцитов мечехвоста)-тестом без проведения исследования на кроликах[a)].

Пирогенность, опосредованная материалом

Пирогенность этого типа возникает по причине факторов, не связанных с эндотоксинами. Ниже приводится список веществ, о которых известно, что они вызывают пирогенную реакцию, не будучи эндотоксинами:

- эндогенные пирогены (например, IL-1, IL-6, TNFα, INF-γ);
- простагландин;
- индукторы (например, полиадениловая, полиуридиловая, полибионосиновая и полирибоцитидиловая кислоты);
- вещества, нарушающие функцию терморегулирующих центров (например, ЛСД, кокаин, морфий);
- разъединяющие агенты оксидативной фосфориляции (например, 4, 6-динитро-о-крезол, динитрофенол, пикриновая кислота);
- N-фенил-β-нафтиламин и альдо-α-нафтиламин (механизм лихорадки неизвестен);
- бактериальные экзотоксины (например, TSST-1, SEA, Spe F, Spe C);
- нейромедиаторы (например, норадреналин, серотонин);
- в некоторых случаях такие металлы, как соли никеля.

Для определения пирогенности, обусловленной материалом, в настоящее время рекомендуется исследование пирогенности на кроликах, которое имеет широкий диапазон обнаружения пирогенной активности. Методы проведения исследования пирогенности на кроликах приводятся по Фармакопее США, Европейской Фармакопее, Японской Фармакопее. LAL-тест не является применимым для определения пирогенности этих веществ. В случае разработки и утверждения других методов определения неэндотоксиновой пирогенности таковые будут рассмотрены в качестве замены исследования на кроликах.

Новой разработкой являются пробы, основанные на цитокинном выбросе моноцитами/макрофагами, которые способны обнаружить пирогенность, связанную с составляющими грамотрицательных и грамположительных бактерий и грибов. Эти пробы не утверждены для определения пирогенности, опосредованной материалом.

[a)] LAL-тест: AAMI/ST72 — Бактериальный эндотоксин — Методологии исследования, регулярный контроль и альтернативы серийным исследованиям.

LAL Testing: AAMI/ST72 — Bacterial Endotoxin — Test methodologies, routine monitoring, and alternatives to batch testing.

Приложение G
(справочное)

Сведения о соответствии национальных стандартов Российской Федерации ссылочным международным стандартам

Обозначение ссылочного международного стандарта	Обозначение и наименование соответствующего национального стандарта
ИСО 10993-1	ГОСТ Р ИСО 10993-1—2009 Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования
ИСО 10993-2	ГОСТ Р ИСО 10993-2—2009 Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 2. Требования к обращению с животными
ИСО 10993-12	ГОСТ Р ИСО 10993-12—2009 Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 12. Приготовление проб и стандартные образцы

Библиография

1 Общая литература

[1] U.S./EPA PB 86/108958 and 89/124077
[2] U.S./FDA Toxicological principles for the safety assessment of direct food additives, 1982
[3] U.S. Code of Federal Regulation 1500.40: Method of Testing Toxic Substances
[4] United States Pharmacopoeia 26: Biological Reactivity Tests, In Vivo; The National Formulary 21, Rockville, MD; Pharmacopoeial Convention, 2003, pp. 2028—2032
[5] ASTM F619-03, Standard Practice for Extraction of Medical Plastics
[6] SN 119800:1990, Biological Evaluation of Dental Materials
[7] European Pharmacopoeia 4th Edition, 2002
[8] MHLW Notification No. 0213001(2003.02.13): Principles for Biological Safety Evaluation of Medical Devices
[9] HALLE, W. (2003) The Registry of Cytotoxicity: Toxicity testing in cell cultures to predict acute toxicity (LD_{50}) and to reduce animal testing, ATLA 31:89—98

2 Библиография по объему доз

[10] HULL, R.M. Guideline limit volumes for dosing animals in the preclinical stage of safety evaluation, Human and Environmental Toxicology, 1995, 14, pp. 305—307
[11] DERELANKO, M.J. and HOLLINGER, M.A. CRC Handbook of Toxicology, CRC Press, NY, 2nd edition, 2001, p. 98
[12] DIEHL, K.-H. et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes, J. Applied Toxicology, 21, 2001, pp. 15—23
[13] MORTON, D. et al. Effects of infusion rates in rats receiving repeated large volumes of intravenous saline solution, Laboratory Animal Sciences, 47, 1997, pp. 656—659
[14] RICHMOND, J.D. Dose limit volumes: The United Kingdom view — past and present. Presented at the Humane Society of the United States — Refinement in Toxicology Testing: Dosing Data: Volume and Frequency, March 14, 1999, New Orleans, LA
[15] MORTON, D.B. et al. Refining procedures for the administration of substances. Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFAW Joint Working Group on Refinement, Laboratory Animals, 35, 2001, pp. 1—41

УДК 615.46:002:006.354 ОКС 11.020 Р20 ОКП 94 4000

Ключевые слова: медицинские изделия, лабораторные животные, испытания на животных, токсичность, пирогенность, эндотоксины, доза

Редактор *О.А. Стояновская*
Технический редактор *Н.С. Гришанова*
Корректор *Е.Д. Дульнева*
Компьютерная верстка *И.А. Налейкиной*

Сдано в набор 29.10.2009. Подписано в печать 07.12.2009. Формат 60 × 84 1/8. Бумага офсетная. Гарнитура Ариал.
Печать офсетная. Усл. печ. л. 3,26. Уч.-изд. л. 2,60. Тираж 90 экз. Зак. 837.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
gost.e-ecolog.ru gost.e-ecolog.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.

gost.e-ecolog.ru