



КонсультантПлюс
надежная правовая поддержка

"Методические указания к
токсиколого-гигиеническому исследованию
полимерных материалов и изделий для
эндопротезирования"
(утв. Минздравом СССР 27.11.1985)

Документ предоставлен **КонсультантПлюс**

www.consultant.ru

Дата сохранения: 24.09.2018

Источник публикации

"Сборник руководящих методических материалов по токсиколого-гигиеническим исследованиям полимерных материалов и изделий на их основе медицинского назначения", М., 1987

Примечание к документу

Взамен Методических указаний, утв. 24 августа 1977 года.

Название документа

"Методические указания к токсиколого-гигиеническому исследованию полимерных материалов и изделий для эндопротезирования"
(утв. Минздравом СССР 27.11.1985)

Утверждены
Начальником Управления
по внедрению новых
лекарственных средств
и медицинской техники
Э.А.БАБАЯНОМ
27 ноября 1985 года

**МЕТОДИЧЕСКИЕ УКАЗАНИЯ
К ТОКСИКОЛОГО-ГИГИЕНИЧЕСКОМУ ИССЛЕДОВАНИЮ ПОЛИМЕРНЫХ
МАТЕРИАЛОВ И ИЗДЕЛИЙ ДЛЯ ЭНДОПРОТЕЗИРОВАНИЯ**

Вводятся взамен утвержденных
24 августа 1977 года

Настоящие Методические указания распространяются на следующие материалы для имплантации:

- стабильные (материалы для изготовления протезов различных внутренних органов, элементов опорно-двигательного аппарата, оболочек имплантируемых деталей стимуляторов внутренних органов);
- биodeградирующие (соединительные элементы для внутренних органов, пластики тканей организма, штифты для остеосинтеза).

Методические указания не распространяются на протезы кровеносных сосудов, клапанов сердца, имплантируемые катетеры, а также протезы стоматологического назначения.

**1. ГИГИЕНИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ К МАТЕРИАЛАМ И ИЗДЕЛИЯМ,
ИМПЛАНТИРУЕМЫМ В ОРГАНИЗМ**

1.1. Полимерные материалы и изделия, имплантируемые в организм, не должны оказывать общетоксическое, аллергенное и местное раздражающее действие на ткани и вызывать отдаленные неблагоприятные последствия (канцерогенное, мутагенное, тератогенное, эмбриотоксическое действие и др.).

1.2. Изделия не должны оказывать токсического действия после стерилизации.

2. ЭТАПЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ

2.1. Санитарно-химические [исследования](#).

2.2. Токсикологические исследования:

- [исследование](#) реакции окружающей ткани, в том числе blastogenic действия, на имплантат;
- [изучение](#) общетоксического действия полимерного материала;
- [изучение](#) биосовместимости образцов материала методами клеточной иммунологии.

3. САНИТАРНО-ХИМИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Условия приготовления вытяжек. Исследуемые вытяжки из изучаемых материалов готовят путем настаивания последних в дистиллированной воде при температуре, равной 70 °C +/- 1,0 °C. Соотношение между весом испытываемого материала и объемом модельной среды рассчитывается по формуле:

$$M \\ - x K, \\ V$$

где:

М - максимально возможное количество имплантируемого материала;

V - объем крови в организме человека (5 л);

К - коэффициент аггравации, равный 10.

Экспозиция вытяжек определяется продолжительностью контакта с организмом и может колебаться от 24 до 30 суток (в случае пожизненного ношения протеза). Режим приготовления вытяжек динамичный: на каждом сроке вытяжки сливаются и анализируются. Тот же образец материала заливается новой порцией модельной среды.

3.2. Химический анализ вытяжки.

3.2.1. Исследование вытяжек интегральными методами (определение окисляемости, бромируемости и pH среды).

3.2.2. Качественное и количественное определение мигрирующих в модельную среду компонентов композиции, остаточных количеств химических соединений, используемых в технологическом процессе синтеза некоторых композиций и изготовлении изделия, а также стерилизующих агентов, указаны в табл. 1.

Таблица 1

Материалы	Исходные продукты	Технологические добавки	Основные химические соединения, подлежащие определению
Нити полиэфирные	Диметиловый эфир терефталевой к-ты, этиленгликоль	Дигликоль-терефталат, метанол	Формальдегид
Полиамид (капрон)	Капролактam, соль АГ (соль гексаметилен-диамина и адипиновой кислоты)		Капролактam, гексаметилендиамин
Полипропилен	Полипропилен (гранулы)	Формальдегид	Пропилен, формальдегид
Полифен	Тетрафторэтилен поливиниловый спирт	ОП-7, сульфат аммония, сульфат цинка	Ацетальдегид
Полиметилметакрилат	Метилметакрилат		Метилметакрилат
Сополимер винилпирролидона и метилметакрилата	Винилпирролидон, Метилметакрилат	Парафор 4А-4С	Винилпирролидон, Метилметакрилат

Результаты позволяют получить информацию о стабильности полимерного материала или об интенсивности процессов деструкции. В случае если композиция изготавливается из новых компонентов или с использованием технологических добавок, не указанных в табл. 1, они подлежат определению с привлечением чувствительных и селективных методов физико-химического и химического анализа.

3.3. Оценка результатов санитарно-химических исследований.

В случае обнаружения миграции в модельную среду веществ с известной токсикологической характеристикой в количествах выше порога хронического действия при пероральном введении (или выше ДКМ веществ, мигрирующих из пластмасс, контактирующих с пищевыми продуктами, если таковые известны) делается вывод о несоответствии изделия гигиеническим требованиям. Дальнейшее исследование его не проводится.

При обнаружении уровня миграции ниже порога хронического действия вещества (или ниже ДКМ) либо при отсутствии достаточных данных о характере биологического действия веществ, мигрирующих в модельную среду, проводятся токсикологические исследования.

4. ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

4.1. Исследование реакции окружающей ткани на имплантат, в том числе бластомогенного действия

Для изучения тканевой реакции образец материала или изделия имплантируется внутримышечно в области бедра: исследуется местное действие полимерного материала с учетом возможного наличия бластомогенных свойств.

Количество животных должно быть не менее 120, предпочтительно самцов одной разводки или равное число самцов и самок. Половине животных образец имплантируется в виде порошка, другой половине в виде пластины (или нескольких) соответствующего веса (см. п. 4.2).

Контрольным животным того же пола и в тех же условиях имплантируется фторопласт-4 того же веса и вида; имплантируемые образцы не должны иметь острых, травмирующих прилегающие ткани краев.

Продолжительность эксперимента должна быть не менее 1 года 8 месяцев.

К концу эксперимента в каждой из двух групп должно сохраниться не менее 30 животных. Сроки исследования: 3, 7, 14, 21 сутки, 1, 2, 4, 6, 9 месяцев, 1 год и 1 год 8 месяцев. На каждом сроке опыта забивают не менее трех животных как опытных, так и контрольных.

Все животные на всех сроках эксперимента подвергаются патолого-анатомическому вскрытию с макроскопическим обследованием тканей вокруг образца и последующим гистологическим и гистохимическим их исследованием.

При вскрытии животных обращается внимание на состояние окружающей имплантат ткани, форму, величину, консистенцию имплантированного материала, характер связи его с прилежащей тканью. Для дальнейшего исследования имплантат иссекают вместе с окружающей тканью, из которой готовятся гистологические микропрепараты.

Микропрепараты окрашиваются гематоксилин-эозином по Ван-Гизону, имплантируются серебром по Футу, на жир - Суданом III, на гликоген по Шабадашу, на железо по Перлсу, на РНК по Бреше, на мукополисахариды - метакроматической окраской толуидиновым синим.

При микроскопическом исследовании в случае стабильных полимеров имеют значение выраженность и продолжительность асептического воспаления в окружающих тканях, стихающего между 1-й и 2-й неделями. Важным моментом являются толщина капсулы, ее клеточный состав, особенно количество лейкоцитов, сроки формирования и созревания капсулы, заканчивающегося приблизительно к первому месяцу. Нарушение процессов коллагенообразования и дифференцировки фибробластов, особенно на поздних сроках, может являться одним из показателей нарушения нормального развития капсулы.

При исследовании биodeградируемого имплантированного полимера обращают внимание на степень и продолжительность асептического воспаления (отек, полнокровие, кровоизлияние, стазы, дистрофические изменения, лейкоцитарная инфильтрация), возникающего сразу после введения полимера и стихающего к 21 суткам. Особенно важны наличие, количество макрофагов и многоядерных гигантских

клеток, ответственных за процесс рассасывания полимера, появляющихся на второй неделе или несколько раньше и присутствующих до окончательного его рассасывания. О фагоцитарной активности данных клеток позволяет судить гистохимическая реакция на кислую фосфатазу, являющуюся маркером лизосомального аппарата. Для выявления в них фагоцитированных фрагментов полимера, зачастую невидимых в проходящем свете, рекомендуется применять поляризационную микроскопию.

О начале возникновения и путях формирования и созревания соединительных тканей вокруг имплантата судят по гистохимической реакции на кислые и нейтральные мукополисахариды, а о степени васкуляризации их - по реакции на щелочную фосфатазу.

Обнаружение таких морфологических изменений, как мононуклеарная инфильтрация, бласттрансформация лимфоцитов, служит основанием для проведения специфической аллергодиагностики.

Внутренние органы животных на всех указанных выше сроках подвергаются микроскопическому исследованию с целью динамического изучения возможных морфологических изменений в них.

4.2. Изучение общетоксического действия полимерного материала

Образцы материала имплантируют половозрелым белым крысам численностью не менее 10 голов в группе под нембуталовым наркозом (доза нембутала - 40,0 мг/кг) в ткани, с которыми материал будет иметь контакт при эксплуатации его в реальных условиях, или внутримышечно.

Изучению подлежит такое количество материала, которое рассчитано по формуле:

$$M = x \cdot K \cdot P$$

где:

M - максимальное количество материала (в граммах), имплантируемое человеку;

P - вес тела человека (70 кг);

K - коэффициент аггравации, равный 20.

Контрольным животным того же пола, возраста и в тех же условиях производится операция без имплантации инородного тела (для стабильных полимеров с введением образцов фторопласта).

Продолжительность эксперимента обуславливается сроком пребывания материалов в организме. При имплантации биodeградирующего материала период наблюдения за животными соответствует предполагаемому сроку деструкции материала или изделия. Контроль за процессом деструкции осуществляется при поэтапном забое животных и изучении соотношения имплантата и окружающих его тканей с помощью морфологических и гистохимических методов в соответствии с п. 4.1.

Обследование животных проводится перед операцией, через две недели после имплантации и далее один раз в один или два месяца на протяжении рассчитанного периода исследования. У животных как обязательный минимум исследуются общее состояние и поведение, динамика веса тела, состояние центральной нервной системы (изучение условно-рефлекторной деятельности или определение способности суммировать подпороговые импульсы), морфологический состав периферической крови с подсчетом лейкоцитарной формулы, белково- и ферментообразующая и дезинтоксикационная функция печени (определение общего белка и соотношение белковых фракций сыворотки крови, определение количества бета-липопротеидов в сыворотке крови, изучение активности холинэстеразы, трансаминаз), содержание гистамина в крови, состояние окислительных процессов в организме. Функциональное состояние почек оценивается по величине спонтанного диуреза, концентрации белка в моче и выделению почками красителя фенола красного. Обязательными в хроническом эксперименте являются

функциональные нагрузки (бромсульфалеином, гексанолом, нембуталом, спиртовая, изменение режима питания, холодовая, ортостатическая и др.).

В ходе токсикологического эксперимента следует обращать внимание на такие неспецифические показатели, как изменение состояния форменных элементов крови (эозинофилия, лимфоцитоз, базо- и моноцитопения, тромбоцитопения), увеличение биогенных аминов и т.д., которые могут ориентировать исследователя в плане возможных аллергенных свойств изучаемого полимера и являться обоснованием для проведения аллергологического исследования.

По окончании эксперимента проводят забой животных способом декапитации. Патолого-анатомическому вскрытию подлежат все животные, участвовавшие в эксперименте, а также контрольные.

Морфологически исследуются внутренние органы (печень, почки, сердце, селезенка, надпочечники, органы воспроизведения, легкие).

При выявлении у большинства опытных животных достоверных отличий от исходных величин и от контроля изучаемых показателей эксперимент может быть прекращен до окончания рассчитанного срока наблюдения за животными.

Материал в этом случае не может быть рекомендован к использованию в клинике.

4.3. Изучение биосовместимости образцов материала методами клеточной иммунологии

Исследование и оценка результатов проводятся в соответствии с "Методикой определения биосовместимости полимерных материалов и изделий для эндопротезирования".

5. ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ

Вывод о возможности (или невозможности) применения изучаемого в эксперименте материала в клинической практике делается на основании сопоставления результатов всех разделов исследования. Результаты санитарно-химического изучения полимерного материала позволяют обосновать лишь отрицательное гигиеническое заключение.

Основополагающей информацией, на которую следует ориентироваться, являются сведения о действии материала на организм, полученные в хроническом эксперименте, поскольку в этом случае условия изучения токсических свойств его наиболее близки к реальным, клиническим.

Полимерный материал или изделие считается нетоксичным, если он не вызывает статистически достоверные изменения изучаемых функций на протяжении эксперимента; применение нагрузочных проб не вызывает срыва компенсаторных механизмов: не обнаруживаются патологические изменения в формировании капсулы вокруг имплантата, не обнаруживаются патогистологические изменения во внутренних органах.

Материал считается токсичным, если из него в модельную среду мигрируют химические соединения в количествах, превышающих порог хронического действия веществ при пероральном введении или выше ДКМ для пищевых пластмасс, если таковые известны.

Аналогичный вывод делается при обнаружении статистически достоверных изменений ($p < 0,05$ при $T - 2,1$) результатов количественных определений, наличия изменений поведенческих реакций животных, а также патоморфологических изменений в формировании капсулы вокруг имплантата, а также во внутренних органах.

Оценку результатов при выявлении признаков бластомогенного действия следует проводить согласно "Методическому письму по исследованию бластомогенных (канцерогенных) свойств различных веществ в опытах на животных" N 819-69, утвержденному Главным санитарным врачом СССР, зам. министра здравоохранения СССР 16 июля 1969 г., раздел 1, п. 5 (А, Б, В).

В случае положительной оценки изучаемого материала рецептура композиции, а также количества его, вводимые в организм, строго регламентируются. Такой материал может быть использован в клинике в конкретных условиях эксплуатации.
