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

МЕЖГОСУДАРСТВЕННЫЙ СТАНДАРТ

ГОСТ ISO 10993-6—2021

Изделия медицинские

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Часть 6

Исследования местного действия после имплантации

(ISO 10993-6:2016, Biological evaluation of medical devices —
Part 6: Tests for local effects after implantation, IDT)

Издание официальное

Москва
Российский институт стандартизации
2021

Предисловие

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

Сведения о стандарте

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

2 ВНЕСЕН Федеральным агентством по техническому регулированию и метрологии

3 ПРИНЯТ Межгосударственным советом по стандартизации, метрологии и сертификации (протокол от 26 августа 2021 г. № 142-П)

За принятие проголосовали:

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

4 Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 9 ноября 2021 г. № 1466-ст межгосударственный стандарт ГОСТ ISO 10993-6—2021 введен в действие в качестве национального стандарта Российской Федерации с 1 марта 2022 г.

5 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ISO 10993-6:2016 «Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации» («Biological evaluation of medical devices — Part 6: Tests for local effects after implantation», IDT).

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

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

6 ВЗАМЕН ГОСТ ISO 10993-6—2011

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

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

© ISO, 2016
© Оформление. ФГБУ «РСТ», 2021

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

Содержание

1 Область применения 1
2 Нормативные ссылки 2
3 Термины и определения 2
4 Основные положения 2
4.1 Общие требования 2
4.2 Подготовка образцов для имплантации 3
4.3 Состав образцов для имплантации 3
5 Требования к методам исследований 4
5.1 Ткани и место имплантации 4
5.2 Лабораторные животные 4
5.3 Продолжительность исследования 5
5.4 Хирургическое вмешательство 6
5.5 Оценка результатов 7
6 Отчет об исследовании 9
6.1 Общие положения 9
6.2 Исследовательская лаборатория 9
6.3 Исследуемые и контрольные образцы 9
6.4 Животные 9
6.5 Извлечение имплантированного образца 9
6.6 Макроскопический и микроскопический анализы 10
6.7 Результат исследования 10
Приложение А (обязательное) Метод имплантации в подкожную ткань 11
Приложение В (обязательное) Метод имплантации в мышечную ткань 13
Приложение С (обязательное) Метод имплантации в костную ткань 15
Приложение D (обязательное) Метод имплантации в ткань головного мозга 17
Приложение Е (справочное) Примеры систем оценки местного биологического действия медицинских изделий после имплантации 21
Приложение ДА (справочное) Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам 24
Библиография 25

Поправка к ГОСТ ISO 10993-6—2021 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

(ИУС № 4 2022 г.)

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

Изделия медицинские

ОЦЕНКА БИОЛОГИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Часть 6

Исследования местного действия после имплантации

Medical devices. Biological evaluation of medical devices.Part 6. Tests for local effects after implantation

Дата введения — 2022—03—01

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на биоматериалы, предназначенные для использования в медицинских изделиях (МИ), и устанавливает методы имплантации для исследования местного биологического действия биоматериалов.

Настоящий стандарт распространяется на следующие биоматериалы:

- нерезорбируемые материалы в твердой форме;
- пористые материалы, материалы в форме жидкости, геля, пасты и порошка;
- деградируемые материалы.

Настоящий стандарт распространяется на биоматериалы для МИ, предназначенные для местного использования по клиническим показаниям, и устанавливает требования к проведению оценки безопасности. Исследуемые образцы имплантируют в заданное место тела животного. Методы имплантации, установленные в настоящем стандарте, не предназначены для оценки или определения механических или функциональных свойств исследуемого биоматериала.

Местное действие биоматериала оценивают, сравнивая реакцию ткани, вызванную исследуемым образцом, с реакцией аналогичной ткани, вызванной контрольным образцом. В качестве контрольных образцов применяют материалы, входящие в состав МИ, биосовместимость и возможное клиническое применение которых ранее доказаны.

При проведении исследований определяют характеристику динамики реакции тканей после имплантации МИ/биоматериала, включая конечный результат процессов интеграции материала в окружающую ткань или его рассасывания/деградации. Для деградируемых/резорбируемых биоматериалов следует определить характеристики их деградации и реакцию местных тканей на нее.

Настоящий стандарт не устанавливает методы исследований общей токсичности, канцерогенности, тератогенности или мутагенности. При этом в процессе исследования биоматериалов методами имплантации в течение длительного периода времени для оценки местного биологического действия у них могут быть выявлены некоторые из вышеперечисленных свойств. Методы имплантации, установленные в настоящем стандарте, допускается применять для исследования общей токсичности. Комбинированные исследования для оценки местного действия после имплантации и общетоксического действия биоматериалов следует выполнять с учетом требований соответствующих стандартов.

Издание официальное

2 Нормативные ссылки

В настоящем стандарте использованы нормативные ссылки на следующие стандарты [для датированных ссылок применяют только указанное издание ссылочного стандарта, для недатированных — последнее издание (включая все изменения к нему)]:

ISO 10993-1, Biological evaluation of medical devices — Part 1: Evaluation and testing (Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования в процессе менеджмента риска);

ISO 10993-2, Biological evaluation of medical devices — Part 2: Animal welfare requirements (Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 2. Требования к обращению с животными);

ISO 10993-4, Biological evaluation of medical devices — Part 4: Selection of tests for interactions with blood (Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 4. Исследование изделий, взаимодействующих с кровью);

ISO 10993-12, Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials (Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 12. Приготовление проб и контрольные образцы);

ISO 10993-16, Biological evaluation of medical devices — Part 16: Toxicokinetic study design for degradation products and leachables (Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 16. Концепция токсикокинетических исследований продуктов деградации и выщелачиваемых веществ)

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применены термины по ISO 10993-1, ISO 10993-2, ISO 10993-12, ISO 10993-16, а также следующие термины с соответствующими определениями.

3.1 **резорбция/рассасывание** (absorb/absorption): Процесс исчезновения неэндогенного (чужеродного) материала (резорбция) или вещества, или его продуктов деградации при прохождении через клетки/ткани или поглощении клетками/тканями биологической системы с течением времени.

3.2 **деградация** (degradation): Процесс разрушения материала.

[ISO 10993-9:2009, статья 3.1]

3.3 **продукт деградации** (degradation product): Любой промежуточный или окончательный побочный продукт, образовывающийся в результате физического, метаболического и/или химического разрушения материала или вещества.

[ISO/TR 37137:2014, статья 2.2, изменен]

3.4 **деградирование** (degrade): Физическое, метаболическое и/или химическое разрушение материала или вещества.

[ISO/TR 37137:2014, статья 2.3]

3.5 **биоматериал** (biomaterial): Материал или вещество, предназначенный(ое) для контакта с биологическими средами живого организма при проведении исследований, лечении, восстановлении или замещении любых тканей, органов или функций организма.

[Конференция по биоматериалам Европейского общества]

4 Основные положения

4.1 Общие требования

Условия проведения исследований следует планировать так, чтобы от каждого животного и в каждом эксперименте были получены все необходимые данные (см. ISO 10993-2, ISO 10993-11 и ISO 10993-16).

Исследования на животных следует проводить в помещениях, разрешенных для этих целей компетентным национальным органом и соответствующих всем надлежащим требованиям обращения с лабораторными животными в соответствии с ISO 10993-2. При проведении исследований следует руководствоваться международными стандартами надлежащей лабораторной практики или другими документами признанных систем контроля качества.

Требования, установленные в настоящем разделе, следует применять при проведении исследований методами, изложенными в приложениях A, B, C и D.

4.2 Подготовка образцов для имплантации

4.2.1 Исследуемые и контрольные образцы готовят в соответствии с ISO 10993-12. Размер и форму имплантируемого образца обосновывают и указывают в отчете. Методы имплантации исследуемых образцов в различные места приведены в приложениях A, B, C и D. Физические характеристики исследуемого образца (такие как форма, плотность, твердость, свойства поверхности), влияющие на характер тканевого ответа, должны быть задокументированы и учтены при обработке и интерпретации результатов исследования. Физические характеристики исследуемых образцов должны соответствовать физическим характеристикам контрольных образцов с максимально возможной точностью.

4.2.2 Каждый имплантируемый образец изготавливают, обрабатывают, очищают от загрязнений и подвергают стерилизационной обработке в соответствии с технологией, используемой для готового МИ, что должно быть подтверждено документально. После окончательной подготовки и стерилизации с имплантируемыми образцами следует работать с особой осторожностью и в асептических условиях для того, чтобы не допустить каких-либо повреждений или контаминацию до или во время имплантации.

4.2.3 Материалы, используемые как матриксы (каркасы) для тканеинженерных медицинских продуктов, не следует исследовать в составе готового МИ с предварительно внесенными клетками и/или белками, так как иммунная реакция животного на клеточные/белковые составляющие таких продуктов и реакция самих клеток при введении их животному могут помешать итоговому местному тканевому ответу, что затрудняет его интерпретацию.

4.2.4 Компоненты композитных материалов (например, костных цементов и стоматологических материалов) следует смешивать и отверждать непосредственно перед имплантацией. Компоненты многокомпонентных материалов также следует смешивать и отверждать до имплантации. Материалы, предназначенные для полимеризации *in situ* (например, костные цементы и многие стоматологические материалы), должны быть введены таким образом, чтобы произошла полимеризация *in situ*. Используемую процедуру обосновывают и документируют.

4.2.5 Для проведения исследований биоматериалы не в твердой форме (включая порошки) рекомендуется помещать в специальные емкости в виде трубок с открытыми концами (см. ISO 10993-12). Исследуемый материал готовят в соответствии с инструкциями изготовителя и наполняют им трубку до верхнего края с особой осторожностью, чтобы он не попал на внешнюю поверхность трубки. Если контакт исследуемого материала с внешней поверхностью трубки произошел, то данный образец не имплантируют. Не допускается попадание воздуха в трубку. На поверхностях исследуемого материала, находящихся на концах трубки, а также на концах самой трубки не должно быть шероховатостей.

Для изготовления образцов рекомендуется применять трубки из полиэтилена (ПЭ), полипропилена (ПП) или политетрафторэтилена (ПТФЭ). При этом следует учитывать, что трубки из ПЭ могут деформироваться при автоклавировании.

4.2.6 Местную реакцию тканей на испытуемый образец оценивают в сравнении с реакцией на контрольный образец, изготовленный из сходных материалов, клиническая применимость и биосовместимость которых установлены.

Примечание — Руководство по подготовке испытуемых и контрольных образцов представлено в ISO 10993-12.

4.2.7 Физические характеристики, такие как форма и особенно состояние поверхности контроля или контролей, должны быть настолько сходными у имплантируемых исследуемых и контрольных образцов, насколько это возможно, а любые отклонения должны быть обоснованы и задокументированы. Если исследуемый материал помещен в трубку, то для изготовления контрольного образца используют трубку из того же материала, что и трубка для изготовления исследуемого образца, при этом наружные диаметры трубок должны быть одинаковыми. Применение контрольного образца в виде трубки или стержня должно быть обосновано и задокументировано.

4.2.8 Число и размеры исследуемых и контрольных образцов должны быть задокументированы.

4.3 Состав образцов для имплантации

Исследуемые образцы должны быть изготовлены из материала/материалов, состав которых аналогичен составу материала/материалов готового к применению МИ, в противном случае может потребоваться множество образцов, изготовленных из различных материалов, например, если МИ изготовлено из ПЭ высокой плотности (ПЭВП) и титана, то исследуемый образец также должен быть изготовлен из ПЭВП и титана.

5 Требования к методам исследований

5.1 Ткани и место имплантации

5.1.1 Исследуемый образец имплантируют в ткани, наиболее соответствующие клиническому использованию материала. Число образцов, вид ткани и место имплантации должны быть обоснованы и задокументированы. Методы имплантации в различные места приведены в приложениях A, B, C и D. Если выбраны другие места имплантации, то следует руководствоваться требованиями, установленными в приложениях B, C и D, а также предоставить обоснование.

Примечание — Для исследования некоторых МИ применяют «вертикальные» документы, рекомендующие конкретные исследования методами имплантации для оценки местных тканевых реакций, например, искусственный хрусталик глаза (см. [47]) и стоматологические материалы (см. [12]). Допускается проводить исследования методами, установленными в настоящем стандарте, и с учетом указанных документов на конкретные МИ.

5.1.2 Место имплантации резорбируемых материалов отмечают способом, удобным для его идентификации в конце установленного срока окончания исследования. Допускается использовать устойчивый и нетравматичный кожный маркер и/или маркировочный шаблон в месте имплантации образца только при проведении кратковременных исследований. Для обозначения места имплантации используют метку, состоящую из соответствующего нерезорбируемого отрицательного контроля (например, ПЭВП размерами 1×2×5 мм, шовная нить ПП, золотое кольцо, зажимы). Перед гистологической обработкой такие метки удаляют без привнесения посторонних включений на поверхность контакта исследуемого образца с окружающей тканью.

Дополнительно допускается проводить хирургические операции без имплантации образца для оценки влияния самой процедуры хирургического вмешательства на реакцию тканей. В таких случаях должно быть предоставлено соответствующее обоснование.

5.2 Лабораторные животные

5.2.1 Уход за животными и их содержание осуществляют в соответствии с ISO 10993-2. Как правило, для исследований рекомендуется применять мелких лабораторных животных, например мышей, крыс, хомяков и кроликов.

5.2.2 Применение крупных животных следует обосновывать с учетом научных данных о конкретном исследуемом биоматериале и/или в зависимости от размеров имплантируемого образца при исследовании целого МИ.

5.2.3 При выборе вида лабораторных животных в соответствии с ISO 10993-2 учитывают размеры имплантируемых исследуемых образцов, их число для одного животного, предполагаемую длительность исследования с учетом продолжительности жизни животного, а также потенциальные межвидовые различия в биологической реакции.

5.2.4 Кратковременные исследования, как правило, проводят на мелких грызунах или кроликах. Для длительных исследований используют мелких грызунов, кроликов, собак, овец, коз, свиней и других подходящих животных с относительно большой продолжительностью жизни.

5.2.5 Перед началом исследований деградируемых биоматериалов на животных следует проанализировать имеющуюся информацию о деградиции биоматериалов в условиях *in vitro*. Для резорбируемых материалов перед началом исследования на крупных животных проводят предварительные эксперименты на грызунах с целью оценки скорости деградации образцов.

5.2.6 Исследуемые и контрольные образцы имплантируют в одинаковых условиях животным одного вида, одного возраста, пола и линии в соответствующие места. Число и размеры образцов, имплантируемых каждому животному, зависят от размера животного и анатомического расположения имплантируемого образца. Рекомендуется контрольные и исследуемые образцы имплантировать одному животному.

5.2.7 При проведении исследования методом имплантации в ткань головного мозга (см. приложение D) или при исследовании местных эффектов после имплантации в рамках исследования общетоксического действия контрольные и исследуемые образцы не допускается имплантировать одному животному.

5.3 Продолжительность исследования

5.3.1 Продолжительность исследования определяют в зависимости от предполагаемого времени клинического воздействия, или эксперимент продолжают до или после достижения устойчивой фазы биологической реакции. Выбранные временные точки обосновывают и документируют.

5.3.2 Краткосрочные реакции на нерезорбируемые материалы, как правило, оценивают в период от 1 до 4 недель, долгосрочные реакции — в период более 12 недель. Следует учитывать, что местная биологическая реакция на имплантируемые материалы зависит от свойств материалов и травмы, вызванной хирургическим вмешательством. Конфигурация ткани вокруг образца изменяется за время, прошедшее после имплантации. В течение первых двух недель после имплантации реакция тканей обусловлена самой процедурой хирургического вмешательства, которую трудно отделить от реакции на образец. В мышечной и соединительной тканях (в зависимости от вида животного и тяжести хирургической травмы) устойчивая фаза относительно популяции клеток наблюдается через 9—12 недель. При имплантации в костную ткань может потребоваться более длительное время наблюдения, прежде чем будет достигнута устойчивая фаза.

5.3.3 Продолжительность исследования резорбируемых материалов зависит от расчетного времени деградации исследуемого образца в клинически значимом месте имплантации. Для установления временных точек исследования образца следует определить время его деградации. Время деградации образца определяют в условиях *in vitro* в режиме реального времени, при краткосрочных исследованиях деградации или, в некоторых случаях, рассчитывают методами математического моделирования. Исследования продолжают до или после достижения точки полной резорбции образца. Продолжительность исследования резорбируемых материалов будет зависеть, в том числе, от скорости деградации материалов. Продолжительность исследования должна охватывать значительную часть процесса деградации образца. По продолжительности проводят следующие исследования:

a) краткосрочное исследование (при отсутствии деградации или минимальной деградации) для оценки ранней тканевой реакции на резорбируемые материалы продолжительностью от 1 до 2 недель после имплантации;

b) среднесрочное исследование (при наличии деградации) резорбируемых образцов продолжительностью в зависимости от характера деградации конкретного резорбируемого материала. В данном временном интервале проводят исследования, включающие гистологическую оценку ответа, т. е. ожидаемую наиболее выраженную тканевую реакцию (например, проявление наиболее вероятных значительных структурных нарушений и/или фрагментации образца). В исследовании имплантируемых образцов с медленной скоростью деградации используют множество временных точек измерения с временными интервалами, которые выбирают в соответствии с ожидаемым характером деградации.

При имплантации образца, состоящего из нескольких материалов с различными скоростями резорбции, должны быть учтены интервалы времени и характер деградации всех его компонентов;

c) долгосрочное исследование (при полном рассасывании имплантируемого образца) продолжительностью в зависимости от требуемого минимального количества образца, которое должно остаться в месте имплантации после его резорбции. После полного рассасывания образца следует выполнить макро- и микроскопический анализ. При отсутствии полного рассасывания образца общие собранные данные должны быть достаточны для характеристики местного действия после имплантации, если:

- ответ, структура и функции затронутой ткани достигли приемлемого стабильного состояния,
- резорбируемый материал и/или его продукты деградации находятся в ограниченном количестве, но при этом визуально различимы в месте имплантации.

Примечание — Деградация образца *in vivo* может происходить в течение длительного периода времени, иногда более одного года. Если образец не рассасывается полностью в ожидаемый период времени и не наблюдается при микроскопировании, то следует использовать дополнительных животных для продления периода наблюдения (группа с интервалами «определяемыми позже»).

Если образец полностью не рассасывается в установленный срок при долгосрочном исследовании, то исследование прекращают и приводят надлежащее обоснование, в отчете фиксируют примерный остаток исследуемого материала, выраженный в процентах.

Рекомендуется проводить долгосрочные исследования, которые охватывают интервалы времени, необходимого для деградации образца. Допускается выполнять имплантацию предварительно деградированного образца (например, в пределах не более 50 % потери массы или 50 % потери механической прочности) методами *in vitro* для более быстрого получения результатов исследования. Следует

учитывать, что данные исследования не заменяют исследования по определению характера деградации резорбируемого образца методами *in vivo* в режиме реального времени.

5.3.4 Характеристику процесса деградации резорбируемого биоматериала не выполняют при исследовании его местного действия в том случае, если данный биоматериал применяют в качестве носителя для высвобождения лекарственного средства, матрикса для тканеинженерных медицинских продуктов или поверхностного покрытия для нерезорбируемых (стабильных) имплантатов, так как при комбинировании исследуемого биоматериала с лекарственными средствами и/или клетками могут возникнуть новые аспекты, для которых могут потребоваться дополнительные сведения и разъяснения соответствующих регулирующих органов.

5.3.5 Оценку местного действия биоматериалов после имплантации рекомендуется проводить с учетом результатов исследований их общетоксического действия. Исследования общетоксического действия биоматериалов проводят в соответствии с ISO 10993-11.

5.3.6 Продолжительность наблюдений после имплантации нерезорбируемых образцов при долгосрочных исследованиях приведена в таблице 1. В каждой временной точке животных гуманно выводят из исследования, применив эвтаназию в соответствии с ISO 10993-2. В некоторых специальных случаях допускается использовать общую анестезию для серийного забора образцов, что должно быть обосновано и задокументировано.

Таблица 1 — Продолжительность наблюдений после имплантации нерезорбируемых образцов при долгосрочных исследованиях

Вид животных	Продолжительность наблюдений после имплантации, недели[a]				
	13	26	52	78	104
Мыши	X	X	X	—	—
Крысы	X	X	X	—	—
Морские свинки	X	X	X	—	—
Кролики	X	X	X	X	X
Собаки	X	X	X	X	X
Овцы	X	X	X	X	X
Козы	X	X	X	X	X
Свиньи	X	X	X	X	X

[a] Сроки наблюдений после имплантации при проведении исследований, указанные в настоящей таблице, являются рекомендуемыми. Допускается применять другие сроки наблюдений при проведении исследований в зависимости от предполагаемого применения исследуемого биоматериала.

5.4 Хирургическое вмешательство

5.4.1 Хирургическое вмешательство выполняют под общей анестезией. Если используют анестезию другого вида, то данный выбор должен быть обоснован и удовлетворять требованиям ISO 10993-2. Конкретные процедуры имплантации в подкожную, мышечную, костную ткань и ткань головного мозга приведены в приложениях A, B, C и D соответственно.

5.4.2 Число имплантируемых образцов на одно животное и число животных, используемых для конкретного метода исследования, установлены в приложениях A, B, C и D. Число исследуемых и контрольных образцов должно быть достаточным для получения достоверных результатов на основе общего числа образцов.

5.4.3 Следует учитывать, что методика хирургического вмешательства может оказать значительное влияние на результаты исследования. Хирургическое вмешательство следует проводить в стерильных условиях и способом, уменьшающим вероятность травмы на участке имплантации. Волосяной покров в области операции удаляют стрижкой, бритьем или другим механическим способом. Открытый участок кожи обрабатывают соответствующим антисептическим раствором. Следует удостовериться, что образец или раневая поверхность не контактирует с шерстью. После хирургического вмешатель-

ства рану закрывают, используя зажимы или швы, проявляя осторожность для поддержания условий стерильности. Применение антибиотиков должно быть обосновано.

5.4.4 За здоровьем животных наблюдают в течение всего периода исследования и регистрируют данные через соответствующие интервалы времени. После хирургического вмешательства за каждым животным наблюдают через установленные интервалы времени и регистрируют любые патологические признаки, включая местные, общие и поведенческие реакции, а также их потенциальное влияние на полученные результаты исследования.

5.4.5 Следует измерять массу тела животных через соответствующие интервалы времени. Анальгетики в послеоперационном периоде применяют в соответствии с ISO 10993-2.

5.4.6 После завершения исследования осуществляют эвтаназию животных с помощью высокой дозы анестетика или другим гуманным способом в соответствии с ISO 10993-2.

5.5 Оценка результатов

5.5.1 Общие положения

Биологическую реакцию на образец оценивают по результатам макроскопического и гистопатологического анализа, полученным в установленные интервалы времени после имплантации. Сравнивают местную биологическую реакцию на исследуемый образец с реакцией на контрольный образец или «ложную» имплантацию.

Примечание — Примеры систем оценок приведены в приложении Е и в документах, представленных в библиографии.

Проводят сравнение контрольного и исследуемого образцов на одинаковых участках имплантации с целью минимизации их возможного смещения относительно окружающей ткани.

При использовании образца цилиндрической формы для оценки отбирают ткани, окружающие его среднюю часть, при использовании рельефного образца цилиндрической формы — ткани, окружающие его центральную часть между выступами (бороздами), или ткани вокруг поверхностей плоских верхних краев образца.

В каждом временном интервале после имплантации отбирают образцы тканей числом, необходимым для объективной оценки биологической реакции (см. приложения A, B, C и D). Образцы тканей отбирают не менее чем от трех разных животных.

Если для оценки доступно меньше участков имплантации, чем в начале исследования, например, в случае гибели животных, то оценку выполняет специалист, определяя, одинакова ли реакция в данных участках имплантации для получения точных результатов общей оценки.

5.5.2 Макроскопический анализ

Выполняют анализ изменений нормальной структуры тканей для каждого места имплантации. При этом следует выполнить оценку региональных дренирующих лимфатических узлов [32]. Рекомендуется применять линзы с малым увеличением. Фиксируют характер и степень проявления любых наблюдаемых реакций ткани, таких как гематомы, отеки, инкапсуляция и/или другие выраженные отклонения. Фиксируют наличие, форму и расположение имплантированного образца, включая возможные остатки деградируемого материала образца. Рекомендуется фиксировать результаты фотографированием и прикладывать к отчету полученные цветные изображения.

Если у животного выявлены признаки нездоровья или реакции на имплантированный образец, то в дополнение к осмотру места имплантации следует провести общее вскрытие.

5.5.3 Извлечение имплантированного образца и забор образцов тканей

После гуманной эвтаназии животного образец удаляют вместе с достаточным количеством окружающей его незатронутой ткани размером от 2 до 5 мм для оценки местной гистопатологической реакции. Если имплантированный образец визуально не виден на участке имплантации (резорбируемый материал), то расширяют место извлечения образца и извлекают несколько миллиметров нормальной ткани со всех сторон ожидаемого расположения имплантированного образца. На данном этапе допускается осуществить химическую фиксацию места имплантации, содержащего исследуемый и/или контрольный образцы. Для большинства материалов и красителей рекомендуется применять химическую фиксацию в 10 % растворе формалина. Рекомендуется осуществлять фиксацию от 24 до 72 ч в зависимости от размеров образца ткани. После химической фиксации материалы в твердой форме, например металлы и плотные пластики, следует осторожно извлечь из периимплантатной капсулы. Капсула отражает область имплантации. Некоторые мягкие материалы могут быть обрезаны и оставлены *in situ* для дальнейшей обработки и изготовления парафиновых срезов с применением микротома. Данную

процедуру рекомендуется применять при проведении исследований на пористых биоматериалах из-за врастания тканей в образец.

При проведении исследований на не деградируемых биоматериалах рекомендуется осуществлять забор дренирующих лимфатических узлов по показаниям общей патологии. При проведении исследований на деградируемых биоматериалах забор дренирующих лимфатических узлов является обязательным, так как следует выполнить оценку миграции продуктов деградации исследуемых материалов в дренирующих лимфатических узлах.

Примечание — Следует учитывать, что не всегда возможно обнаружить дренирующие лимфатические узлы.

При обнаружении отклонений в здоровье животного, показаниях макропатологии или наличии в плане исследования необходимости оценки общей токсичности допускается осуществлять забор других органов, если это возможно.

Вырезанные образцы ткани обрабатывают согласно надлежащим процедурам, необходимым для проведения гистологических исследований, включая фиксацию, вырезание, заливку, изготовление срезов и окраску. Если возможно, то отмечают расположение имплантированного образца, число срезов, их толщину и форму.

При использовании традиционных методик (заливки парафином) тканевой конверт (образец ткани с включенным в ней имплантированным образцом) вскрывают до или после стадии фиксации и регистрируют в отчете состояние поверхности образца и окружающих его тканей. Следует соблюдать особую осторожность, чтобы не повредить контактную поверхность имплантированного образца и ткани, если конверт вскрывается на свежих незафиксированных тканях. Если контактную поверхность имплантированного образца и ткани исследуют в твердых материалах, таких как металлы или плотные пластики, то рекомендуется использовать твердый пластик вместо парафина для заливки неповрежденного тканевого конверта с образцом *in situ*; при этом применяют надлежащие методики приготовления гистологических срезов.

Если срезы тканей или имплантированного образца не могут быть приготовлены в парафине, то для оценки их контактной поверхности допускается применять другие методики заливки для приготовления срезов (например, заливка пластиком). Если при заливке происходят изменения контактной поверхности ткани и имплантированного образца, то данные изменения поверхности следует задокументировать.

Примечание — Обработку образцов мягких тканей, в которые имплантированы «мягкие» образцы, допускается выполнять без удаления имплантированного образца.

5.5.4 Микроскопический анализ

При использовании системы гистологической оценки в баллах следует учитывать площадь среза имплантированного образца в ткани количественно (например, в микрометрах) или полуколичественно (см. приложение Е). В отчете регистрируют ориентацию имплантированного образца в срезе, число срезов и геометрические параметры среза.

Оценивают и регистрируют следующие характеристики биологической реакции:

- степень фиброза/фиброзной капсулы; толщину слоя в микрометрах или полуколичественно (см. приложение Е) и наличие воспалительной реакции;
- дегенерацию, определяемую изменениями в морфологии ткани;
- число и распределение клеток в очаге воспаления как функцию расстояния от поверхности образца, контактирующей с тканью, таких как полиморфоядерные клетки, лимфоциты, плазматические клетки, эозинофилы, макрофаги и многоядерные клетки;
- наличие и степень некроза ткани;
- другие изменения ткани, такие как васкуляризация, минерализация, образование жирового инфильтрата, гранулем и костной ткани;
- характеристики образца, такие как фрагментация и/или наличие остатков, форма и локализация остатков деградации;
- качество и количество вросшей ткани для пористых и резорбируемых имплантированных образцов.

Гистологические ответы, включая какие-либо негативные реакции, должны быть задокументированы. Для документирования рекомендуется использовать микрофотографии.

Для деградируемых/резорбируемых образцов на уровнях средней или практически полной деградации в образцах тканей должно оставаться небольшое количество исследуемого биоматериала. Дополнительно для оценки восстановления до нормальной структуры ткани рекомендуется исследовать репрезентативные области места имплантации, обозначенного меткой или шаблоном.

При имплантации в костную ткань оценивают характеристики контактной поверхности ткани и образца. Оценивают площадь контактной поверхности и количество костной ткани вблизи образца, а также наличие мешающих некальцинированных тканей. Регистрируют наличие процессов резорбции или формирования костной ткани.

При выявлении негативных реакций (например, инфильтрация иммунных клеток) рекомендуется дополнительно выполнить гистопатологическую оценку гематоксилином и эозином.

5.5.5 Оценка местной реакции тканей

Примеры количественных систем оценки приведены в [25] и [26].

Примеры полуколичественных систем оценки приведены в приложении Е и в [17], [18] и [20].

Дополнительно примеры других систем оценки приведены в документах, представленных в библиографии.

6 Отчет об исследовании

6.1 Общие положения

Отчет об исследовании должен содержать подробную информацию для обеспечения возможности проведения независимой оценки результатов. Если образец состоит из нескольких материалов, то следует оценить и описать каждый материал отдельно. В отчет включают информацию в соответствии с 5.1—5.5. Также в отчет включают следующую информацию.

6.2 Исследовательская лаборатория

В отчете указывают:

a) наименование исследовательской лаборатории и сведения о сертификатах;

b) дату, имя и подпись ответственных(ого) лиц(а).

6.3 Исследуемые и контрольные образцы

В отчете приводят:

a) описание имплантируемых исследуемого и контрольного образцов, включая наименование, состояние поверхности, конфигурацию, размеры, массу и форму;

b) обоснование выбора материала, применяемого в качестве контрольного образца, физической формы имплантируемых образцов.

6.4 Животные

В отчете приводят:

a) обоснование выбора вида, породы, пола, возраста и/или веса и происхождения лабораторных животных;

b) сведения об условиях обращения с лабораторными животными во время исследования, включая условия содержания и рацион;

c) результаты всех наблюдений за обращением с животными во время исследования;

d) описание методики имплантации, включая хирургическое вмешательство, применяемые анестезию и послеоперационное обезболивание, общее число имплантируемых образцов и их число на одно животное;

e) информацию о проблемах, связанных с имплантацией или извлечением имплантированного образца, и результаты всех наблюдений, сделанных во время исследования.

6.5 Извлечение имплантированного образца

В отчете приводят:

a) описание методики извлечения имплантированных образцов, число извлеченных образцов у каждого животного и временной интервал наблюдения;

b) оценку имплантируемого образца, включая его макроскопический анализ, тканей и органов, методику, используемую для фиксации и подготовки гистологических срезов;

c) методы и результаты гистологического анализа места имплантации и любых органов, демонстрирующих изменения при вскрытии, по показаниям;

d) для резорбируемых биоматериалов дополнительно приводят описание степени деградации, включая характеристики образца при извлечении (свободные частицы, формирование волокон, аморфный гель, кристаллообразование), потенциально значимые дополнительные результаты, такие как изменения и потеря молекулярной массы образца, если он может быть удален без повреждения контактной поверхности с тканью;

e) если целью исследования является ремоделирование ткани вокруг образца, то указывают результаты оценки формирования ожидаемой нормальной ткани на месте имплантации, а не результаты ее деградации.

6.6 Макроскопический и микроскопический анализы

В отчете приводят:

a) результаты макроскопического анализа, включая результаты визуального осмотра каждого имплантированного образца, описание внешнего вида окружающих его тканей. Если требуется, то включают описание дренирующих лимфатических узлов. При проведении исследований на образцах резорбируемых материалов данное требование обязательно;

b) результаты, полученные при каждом гистологическом исследовании и (статистический) анализ, если применимо. Если требуется, то включают результаты наблюдений и оценки дренирующих лимфатических узлов. При проведении исследований на образцах резорбируемых материалов данное требование обязательно.

6.7 Результат исследования

Результатом оценки биологического действия исследуемого биоматериала являются данные, полученные при сравнении местных биологических реакций на исследуемый и контрольный образцы после имплантации.

Приложение А
(обязательное)

Метод имплантации в подкожную ткань

А.1 Область применения

Данный метод исследования используют для оценки биологической реакции подкожной ткани на имплантируемый биоматериал.

Метод используют для сравнения биологического действия одного и того же биоматериала с разной текстурой и состоянием поверхности, а также полученных с применением различных видов обработки или способов модифицирования.

А.2 Сущность метода

Биологическую реакцию на имплантируемые исследуемые образцы сравнивают с биологической реакцией на имплантируемые контрольные образцы. Контрольными образцами являются материалы, применяемые в МИ, клиническая применимость и характеристики биосовместимости которых установлены.

А.3 Требования к образцам

Общие требования к подготовке исследуемых и контрольных образцов установлены в 4.2. Размеры имплантируемых образцов зависят от размеров лабораторного животного. Требования к размерам образцов:

a) размеры образца в форме диска — диаметр от 10 до 12 мм, толщина от 0,3 до 1 мм.

Примечание — Для оценки биологического действия полимерного материала в форме пластины рекомендуется имплантацию выполнять в подкожный участок, расположенный ниже *мышцы panniculus carnosus*. Во внутримышечном участке данный материал может образовывать складки, что влияет на оценку биологического действия материала *per se*.

b) размеры образца в форме стержня или цилиндра — диаметр от 1,5 до 2 мм, длина от 5 до 10 мм, образцы должны иметь закругленные концы;

c) размеры трубок с образцами биоматериалов, представленных в нетвердой форме, включая порошки, — диаметр 1,5 мм, длина 5 мм (см. 4.2). По возможности, образцы рекомендуется имплантировать непосредственно в ткани. Место имплантации резорбируемых материалов рекомендуется отмечать соответствующей меткой;

d) при проведении исследований методами имплантации в сочетании с исследованиями общей токсичности допускается использовать образцы других размеров, анатомически совместимых с клинически значимыми образцами.

А.4 Лабораторные животные и место имплантации

Образцы вводят в подкожную ткань спины взрослых мышей, крыс, морских свинок или кроликов. Выбирают животных одного вида в соответствии с ISO 10993-2.

Для исследования каждого биоматериала используют не менее трех животных. Число участков имплантации должно быть достаточным для введения 10 исследуемых и 10 контрольных образцов каждого биоматериала в каждом исследовании. При заборе нескольких образцов ткани из одного места имплантации расстояние между гистологическими срезами должно быть не менее 1 см.

Образцы ткани для оценки биологического действия биоматериала отбирают не менее чем от трех животных. Нерезорбируемый контрольный образец следует оценивать в каждой временной точке. Допускается использовать одну временную контрольную точку при наличии документально оформленного приемлемого обоснования, содержащего:

- сведения о контрольном образце;
- сведения о продолжительности наблюдений после имплантации;
- информацию о модели на экспериментальных животных;
- протокол исследования;
- дополнительные данные о контрольном образце.

А.5 Процедура имплантации

А.5.1 Общие положения

Применяют один из методов имплантации, приведенных в А.5.2 и А.5.3.

А.5.2 Имплантация в область средней линии спины

Надрезают кожу и тупым рассечением делают один или более подкожных карманов. Основание кармана должно располагаться на расстоянии более 10 мм от линии разреза. Помещают в каждый карман по одному имплантируемому образцу так, чтобы они не соприкасались друг с другом. Допускается имплантировать образцы в бока животного.

Примечание — Допускается помещать имплантат в нужный участок с помощью трокара или, по показаниям, сделать несколько маленьких надрезов.

А.5.3 Имплантация в область шеи

У мышей делают надрез длиной 10 мм над крестцом и тупым рассечением подготавливают подкожный туннель, направленный к шее. Затем имплантируемый образец проталкивают через туннель и размещают его в шее [23], [24].

Крысам имплантируют по одному контрольному и исследуемому образцу, каждой отдельно в обе стороны шеи так, чтобы образцы не соприкасались друг с другом. Допускается имплантировать образцы в бока и/или задние ноги крыс.

На определенном расстоянии от имплантированного образца закрывают туннель стежками подходящего шовного материала для предотвращения его сдвига.

А.6 Продолжительность наблюдений после имплантации

Продолжительность исследования и наблюдений после имплантации, обеспечивающую стабильную фазу биологической реакции ткани, устанавливают в соответствии с 5.3.

А.7 Оценка биологической реакции

Биологическую реакцию оценивают в соответствии с требованиями, установленными в разделе 5.

А.8 Отчет об исследовании

В отчет об исследовании включают полученные результаты и информацию в соответствии с разделом 6, включая обоснования выбранного метода исследования.

Приложение В
(обязательное)

Метод имплантации в мышечную ткань

В.1 Область применения

Данный метод исследования используют для оценки биологической реакции мышечной ткани на имплантируемый биоматериал.

В.2 Сущность метода

Имплантируемый образец вводят в мышечную ткань лабораторных животных. Биологическую реакцию на имплантируемые исследуемые образцы сравнивают с биологической реакцией на имплантируемые контрольные образцы. Контрольными образцами являются материалы, применяемые в МИ, клиническая применимость и характеристики биосовместимости которых установлены.

В.3 Требования к образцам

Общие требования к подготовке исследуемых и контрольных образцов установлены в 4.2. Размеры имплантируемых образцов зависят от размеров выбранной группы мышц лабораторного животного.

Для паравертебральных мышц кролика, как правило, используют образцы шириной от 1 до 3 мм и длиной примерно 10 мм. В некоторых случаях допускается использовать более крупные имплантируемые образцы диаметром не более 10 мм и высотой не более 3 мм.

При проведении исследований методами имплантации в сочетании с исследованиями общей токсичности допускается использовать образцы других размеров, анатомически совместимых с клинически значимыми образцами.

Имплантируемые образцы должны иметь закругленные края и концы.

В.4 Лабораторные животные и место имплантации

Следует убедиться, что размер мышечной ткани достаточен для размещения имплантируемых образцов. Для каждого исследования используют животных только одного вида. Животным под анестезией имплантируемые образцы помещают в мышечную ткань.

Примечание — Имплантацию образцов рекомендуется выполнять кроликам в паравертебральные мышцы. Имплантацию образцов небольших размеров допускается выполнять крысам в ягодичные мышцы или кроликам в бедренные мышцы.

Для исследования каждого биоматериала используют не менее трех животных. Число участков имплантации должно быть достаточным для введения 10 исследуемых и 10 контрольных образцов каждого биоматериала в каждом исследовании.

Исследуемые и контрольные образцы имплантируют не менее чем трем разным животным.

Если предполагается, что контрольный образец может вызвать реакцию, превышающую минимальный ответ, то его следует имплантировать в место, противоположное нахождению исследуемого образца. В данном случае используют дополнительный контрольный образец с известным минимальным ответом.

Не резорбируемый (биостабильный) контрольный образец следует оценивать в каждой временной точке. Допускается использовать одну временную контрольную точку при наличии документально оформленного приемлемого обоснования, содержащего:

- сведения о контрольном образце;
- сведения о продолжительности наблюдений после имплантации;
- информацию о модели на экспериментальных животных;
- протокол исследования;
- имеющиеся данные о контрольном образце.

В.5 Процедура имплантации

Имплантацию проводят с помощью иглы для подкожных инъекций или трокара. Крупные образцы допускается имплантировать другими подходящими способами.

Исследуемые образцы имплантируют в мышцу так, чтобы направление длинной оси было параллельно мышечным волокнам.

Кролику в паравертебральную мышцу имплантируют достаточное число исследуемых образцов вдоль одной стороны позвоночника на расстоянии 25—50 мм от средней линии параллельно позвоночному столбу и приблизительно на расстоянии 25 мм друг от друга. Каждому животному имплантируют также достаточное число контрольных образцов в контралатеральную мышцу.

В.6 Продолжительность наблюдений после имплантации

Продолжительность исследования и наблюдений после имплантации, обеспечивающую стабильную фазу биологической реакции ткани, устанавливают в соответствии с 5.3.

В.7 Оценка биологической реакции

Биологическую реакцию оценивают в соответствии с требованиями, установленными в 5.5.

В.8 Отчет об исследовании

В отчет об исследовании включают полученные результаты и информацию в соответствии с разделом 6.

Приложение С
(обязательное)

Метод имплантации в костную ткань

С.1 Область применения

Данный метод исследования используют для оценки биологической реакции костной ткани на имплантируемый биоматериал. Выбор места имплантации в решетчатую («губчатую») или плотную часть компактной кости зависит от конечного использования исследуемого биоматериала.

Метод используют для сравнения биологического действия одного и того же биоматериала с разной текстурой и состоянием поверхности, а также полученных с применением различных видов обработки или способов модифицирования.

С.2 Сущность метода

Имплантируемый образец вводят в костную ткань лабораторных животных. Биологическую реакцию на имплантируемый исследуемый образец сравнивают с биологической реакцией на имплантируемый контрольный образец. Контрольными образцами являются материалы, применяемые в МИ, клиническая применимость и характеристики биосовместимости которых установлены.

С.3 Требования к образцам

С.3.1 Общие положения

Общие требования к подготовке исследуемых и контрольных образцов установлены в 4.2.

С.3.2 Форма образцов

Для исследования применяют твердые образцы в форме винта с резьбой для обеспечения первоначального стабильного положения в костной ткани. Если изготовление образца в форме винта непрактично, то допускается использовать образец в форме цилиндра.

В зависимости от биоматериала и цели исследования допускается использовать образцы другой формы (например, стержни, пасты).

С.3.3 Размеры образцов

Размеры имплантируемого образца зависят от размеров лабораторного животного и выбранной кости. Требования к размерам образцов, имплантируемых животным в среднюю часть кортикальной кости:

- размеры образцов в форме цилиндра для кроликов — диаметр 2 мм, длина 6 мм;
- размеры образцов в форме цилиндра для собак, овец и коз — диаметр 4 мм, длина 12 мм;
- размеры образцов в форме винта для кроликов, собак, овец, коз, свиней — от 2 до 4,5 мм.

При проведении исследований методами имплантации в сочетании с исследованиями общей токсичности допускается использовать образцы других размеров, анатомически совместимых с клинически значимыми образцами.

С.4 Лабораторные животные и место имплантации

С.4.1 Лабораторные животные

Имплантируемые образцы помещают в костную ткань мелких грызунов, собак, овец, коз, свиней или кроликов. Выбирают один из указанных видов животных в соответствии с ISO 10993-2. При этом следует учитывать видовые отличия в физиологии костной ткани у различных животных. Качество костной ткани может варьировать среди нецеленаправленно выведенных животных одного вида, поэтому при выборе подходящего лабораторного животного и для интерпретации результатов исследования может потребоваться дополнительно выполнить костную денситометрию. Выбор лабораторного животного для исследования должен быть обоснован и задокументирован.

С.4.2 Место имплантации

Исследуемые и контрольные образцы имплантируют животным в эквивалентные анатомические участки. Участки имплантации выбирают с учетом минимизации риска смещения образца. Число участков имплантации должно быть достаточным для введения 10 исследуемых и 10 контрольных образцов каждого биоматериала в каждом исследовании. Забор образцов ткани осуществляют от трех разных животных.

Нерезорбируемый (биостабильный) контрольный образец следует оценивать в каждой временной точке. Допускается использовать одну временную контрольную точку при наличии документально оформленного приемлемого обоснования, содержащего:

- сведения о контрольном образце;
- сведения о продолжительности наблюдений после имплантации;
- информацию о модели на экспериментальных животных;
- протокол исследования;
- дополнительные данные о контрольном образце.

Как правило, образцы имплантируют животным в бедра и область большой берцовой кости. Допускается выполнять имплантацию в другие участки костной ткани животных.

Число участков имплантации:

a) Для одного кролика — не более 6 участков имплантации:

- три участка для исследуемых образцов,
- три участка для контрольных образцов;

b) Для одной собаки, овцы, козы или свиньи — не более 12 участков имплантации:

- шесть участков для исследуемых образцов,
- шесть участков для контрольных образцов.

На одном животном следует размещать не более 12 образцов.

Размеры, масса и возраст животного, а также выбранный участок имплантации должны гарантировать, что размещение образца не вызовет значительного риска патологического перелома в данном месте. При использовании для исследования молодых животных не допускается выполнять имплантацию в участки, относящиеся к эпифизу или другой незрелой костной ткани.

С.5 Процедура имплантации

При подготовке костной ткани используют дрель с низкой скоростью сверления. Сверление прерывают для обильного увлажнения участка имплантации физиологическим раствором и отсасывания, так как чрезмерное нагревание может привести к некрозу местной ткани.

Диаметры имплантируемого образца и имплантационного ложа в костной ткани должны точно соответствовать друг другу во избежание фиброза.

Обнажают кортикальный слой каждой бедренной или большой берцовой кости и просверливают соответствующее число отверстий для образцов. У кроликов делают не менее трех отверстий, у более крупных животных — не менее шести отверстий. Перед введением образца отверстие рассверливают до получения нужного диаметра или постукивают по головке винта. Образцы в форме цилиндра вставляют в подготовленное отверстие, нажимая на них пальцем для плотного расположения. Образцы в форме винта вкручивают в подготовленное отверстие с помощью инструмента с регулированием крутящего момента. Крутящий момент регистрируют в отчете.

С.6 Продолжительность наблюдений после имплантации

Продолжительность исследования и наблюдений после имплантации, обеспечивающую стабильную фазу биологической реакции ткани, выбирают в соответствии с 5.3.

С.7 Оценка биологической реакции

Биологическую реакцию оценивают в соответствии с требованиями, установленными в 5.5.

С.8 Отчет об исследовании

В отчет об исследовании включают полученные результаты и информацию в соответствии с разделом 6.

Приложение D
(обязательное)

Метод имплантации в ткань головного мозга

D.1 Область применения

Данный метод исследования применяют для оценки биологической реакции ткани головного мозга на имплантированный биоматериал. Место имплантации в головном мозге выбирают в зависимости от конечного применения биоматериала.

Биоматериал для нейроинтервенционного МИ, находящийся в контакте со стенкой сосуда, а не с нервной тканью непосредственно, предварительно оценивают в соответствии с ISO 10993-4.

Пример — Электрод, имплантированный в головной мозг, шунты для коррекции гидроцефалии и дренирования.

D.2 Сущность метода

Имплантат помещают в ткань головного мозга лабораторного животного. Биологическую реакцию на имплантированные исследуемые образцы сравнивают с биологической реакцией на имплантируемые контрольные образцы. Контрольными образцами являются материалы, применяемые в МИ, клиническая применимость и характеристики биосовместимости которых установлены.

D.3 Требования к образцам

D.3.1 Общие положения

Общие требования к подготовке исследуемых и контрольных образцов установлены в 4.2.

Нерезорбируемый (биостабильный) контрольный образец следует оценивать в каждой временной точке. Допускается использовать одну временную контрольную точку при наличии документально оформленного приемлемого обоснования, содержащего:

- сведения о контрольном образце;
- сведения о продолжительности наблюдений после имплантации;
- информацию о моделях на экспериментальных животных;
- протокол исследования;
- имеющиеся данные о контрольном образце.

Если предполагается, что исследуемый образец вызовет более чем минимальный ответ, то может быть выбран альтернативный контроль с приемлемым ответом. Выбор контрольного образца для сравнения должен быть обоснован с учетом свойств материала и его клинического применения.

D.3.2 Размеры и форма образца

Размеры образца зависят от вида животного и выбранного участка имплантации. Для метода имплантации, установленного в настоящем приложении, рекомендуется использовать крыс и кроликов.

Размеры образцов для имплантации на паренхимную поверхность:

- размеры образцов стержне- или клиновидной формы — диаметр/срез 1 мм × 1 мм или менее, длина от 2 до 6 мм;
- диаметр образца в форме диска – 8 мм.

Толщину образца в форме диска выбирают в зависимости от клинического применения биоматериала, данный выбор должен быть обоснован и задокументирован. Образцы биоматериалов, предназначенных для использования в составе МИ в контакте преимущественно с паренхиматозной тканью, имплантируют на ее поверхность.

D.4 Лабораторные животные и место имплантации

D.4.1 Лабораторные животные

В настоящем стандарте установлен метод имплантации образцов крысам и кроликам. Если из-за характеристик исследуемого образца требуется использовать другой вид животных, то в методику исследования вносят соответствующие изменения. Для исследования применяют животных обоих полов в равном численном соотношении, если не предоставлено достаточное обоснование для использования животных одного пола.

Следует использовать здоровых животных, не подвергавшихся ранее исследовательским процедурам. Вид и возраст животных являются существенными факторами, так как существуют различия в нейрофизиологии и биологической реакции, и данный фактор должен быть учтен до начала процедуры имплантации.

D.4.2 Место имплантации

Для каждой временной точки должно быть определено не менее 8 участков имплантации и 8 участков отрицательного контроля (разделенные поровну между самцами и самками), что позволит оценить местное нейральное действие. Исследуемые и контрольные образцы имплантируют животным в эквивалентные анатомические участки. Участок имплантации следует выбирать так, чтобы минимизировать риск механической травмы при

хирургическом вмешательстве. Для имплантации используют только одно полушарие головного мозга у каждого животного и только один вид образца, исследуемый или контрольный. У каждой крысы для имплантации выбирают один участок на полушарии, у каждого кролика — два участка.

При имплантации в костную, мышечную и подкожную ткани исследуемый и контрольный образцы, как правило, вводят одному животному. При имплантации образца в нервные ткани, их ответные реакции не всегда локализованы и могут распространиться на широкую область, в том числе проявиться во всем полушарии головного мозга. В моделях на лабораторных животных при травме головного мозга может быть индуцирована миграция микроглии через миелиновые оболочки мозолистого тела к противоположному полушарию. Таким образом, микроглия, активированная имплантированным образцом, способна мигрировать через мозолистое тело и влиять на биологическую реакцию на противоположной стороне. Это может повлиять на обострение реакции на участке, в который имплантирован отрицательный контроль, и привести к ошибке в базовом ответе. Также, влияние травмы противоположного полушария может обострить реакцию на травму в участке, в который имплантирован исследуемый образец. В первом случае нормальный базовый ответ сдвигается на материал отрицательного контроля, что приведет к ложноотрицательному результату для исследуемого образца. Во втором случае реакция, происходящая в противоположном полушарии, может обострить реакцию на исследуемый образец, что приводит к ложноположительному результату. Учитывая, что для исследования применяют небольшое число животных, следует контролировать указанные факторы и снизить вариативность результатов. В данном методе имплантации следует применять отдельных животных для введения контрольных и исследуемых образцов. Выявленные межполовые различия в реакциях у животных должны быть учтены при оценке ответа на имплантированные образцы (см. [43]—[45]). Для контроля потенциальной вариативности результатов из-за межполовых различий животных в исследованиях следует использовать одинаковые количества самцов и самок каждого вида и линии.

D.5 Процедура имплантации

Каждое животное взвешивают перед имплантацией и периодически после нее через заданные интервалы времени. После обезболивания и анестезии, выполненных соответствующим способом, хирургически подготавливают череп животного. Стабильность обезболивания и анестезии следует поддерживать во время всей процедуры хирургического вмешательства и в течение некоторого времени после имплантации.

Животные должны быть надлежащим образом обездвижены во время процедуры хирургического вмешательства. Используя асептические хирургические методики, обнажают череп и в черепной коробке проделывают отверстия размерами, достаточными для введения образцов. Дополнительно готовят небольшие отверстия в твердой мозговой оболочке, затем образцы осторожно помещают в надлежащую часть головного мозга.

Следует учитывать, что методика хирургического вмешательства серьезно влияет на результат любой процедуры имплантации в ткань головного мозга, так как степень ответной реакции на травму (как глиальной, так и нейрональной) связана с уровнем физической травмы, что может привести к получению недостоверных результатов исследования (см. [45], [46] и [48]).

Рекомендуется применять для введения образцов животным стереотактические методы, обеспечивающие надлежащий контроль правильности размещения образцов и сведения к минимуму физического ущерба в месте пункции. Допускается применять другие методы введения образцов с обездвижением животных.

D.6 Продолжительность наблюдений после имплантации

Для объективной характеристики биологической реакции продолжительность наблюдений после имплантации должна составлять не менее одной недели. Допускается проводить наблюдения в другие подходящие временные интервалы. Следует учитывать, что нейродегенеративные процессы могут быть быстрыми и транзиторными, так как гибель клеток может произойти в первые несколько суток после введения, как выявлено при имплантации некоторых химических веществ (см. [45]).

Допускается увеличивать продолжительность наблюдений после имплантации с учетом клинического применения исследуемого биоматериала.

D.7 Требования к наблюдениям после имплантации

Животные должны быть размещены индивидуально. Животных наблюдают дважды в день, контролируя надлежащее заживление участков имплантации, возвращение к нормальному режиму питания и питья и выявляя какие-либо аномальные клинические признаки результатов хирургического вмешательства. Частоту наблюдения корректируют, основываясь на первоначальных наблюдениях. Если животным вводят антибиотики, то это должно быть задокументировано, так как некоторые соединения, например миноциклин, могут непосредственно модулировать реакцию микроглии мозга и макрофагов (см. [49]).

Повреждение тканей головного мозга может привести к аномальному поведению животного, поэтому клинические наблюдения включают в оценку местного действия образцов на головной мозг.

Для контроля общего состояния здоровья каждого животного следует проводить его тщательный (еженедельный) физический осмотр. Наблюдения регистрируют и включают все аномальные клинические признаки, аномальное поведение животного или общие клинические проявления действия образца, или результаты его действия на центральную нервную систему. Дополнительно, при оценке расстройств центральной нервной системы исполь-

зуют системы стандартных тестов поведенческого фенотипирования (FOB) или модифицированный тест Ирвина. Аномальными клиническими признаками являются: изменения кожи, шерсти, глаз или слизистых, выделения и экскреция или другие свидетельства вегетативной деятельности [например, слезоотделение, пилоэрекция (эффект «гусиная кожа»), размер зрачка, необычный тип дыхания]. Допускается наличие у животного других аномальных клинических признаков. Дополнительные изменения в движениях животного, его осанке, реакции на оклик, а также наличие у животного клонических или тонических судорог, навязчивого поведения (например, избыточная чистка, повторяющееся кружение) или странного поведения (например, самоповреждается, пятится) регистрируют. Для поведенческих и нейрологических признаков следует зарегистрировать время первого наблюдения и последующую прогрессию или разрешение. После первоначального обнаружения у животного аномального поведения, нейрологических признаков, изменения двигательной активности, осанки или рефлексов следует установить ежедневный режим наблюдений за соответствующими признаками.

Конечные точки для раннего вывода животного из исследования должны быть установлены до начала исследования. Как только выявлены серьезные аномалии клинических признаков, следует провести консультации с лечащим или квалифицированным ветеринаром, специализирующимся на лабораторных животных, или персоналом, компетентным в идентификации клинических повреждений, для клинического осмотра. Лечащий или квалифицированный ветеринар, специализирующийся на лабораторных животных, должен определить, необходимо ли удалить лабораторных животных из исследования с применением эвтаназии.

D.8 Оценка биологической реакции

Биологическую реакцию оценивают в соответствии с требованиями, установленными в 5.5.

Все изменения, выявленные при макроскопическом анализе, далее оценивают с применением микроскопического анализа. Рекомендуется применять фиксацию образца для уменьшения его погружения в объем ткани.

Кроме того, шейный (дренирующий) лимфатический (лимфатические) узел(узлы) должен (должны) быть исследован(ы) микроскопически.

Дополнительно цервикальный (дренирующий) лимфатический узел или узлы анализируют визуально с применением микроскопа. Осматривают ткани головного мозга животных с контрольными и исследуемыми образцами. Дополнительно ткани животных, погибших преждевременно или умерщвленных во время исследования, анализируют визуально, какие-либо повреждения анализируют с применением микроскопа.

Выполняют нейропатологическую оценку ткани на выявление наличия глиоза и нейродегенерации, используя надлежащие гистологические красители и/или биохимические индикаторы повреждений. Применение конкретного красителя/индикатора повреждений должно быть задокументировано и обосновано соответствующими ссылками на рецензированные источники, описывающие красители, используемые для оценки нейродегенерации или глиоза. Примеры красителей и биомаркеров, рекомендуемых к использованию для оценки биологического действия имплантированного образца на ткани головного мозга, приведены в таблице D.1 (см. [50]).

Таблица D.1 — Примеры биомаркеров и красителей

Краситель или биомаркер	Оцениваемый тип клеток или клеточный компонент
Гематоксилин и эозин (H&E)	Все ткани центральной нервной системы и лимфатических узлов
Флуоронефритный	Дегенерация нейронов
Аутофлуоресценция	Нейродегенерация
Антитело антиглиального фибриллярного кислого белка (GFAP)	GFAP (биомаркер астроцитов)
Антитело Anti-iba-1	Молекула 1 связующего адаптера ионизированного кальция (специфична к микроглии)
Люксол прочный синий	Миелин
Амино медно-серебряный краситель	Дегенерация нейронов

Не существует специфичных антител для всех видов животных.

Рекомендуется получить изображения участков имплантации с высоким разрешением, подтверждающие диагноз патолога или результат количественного анализа, демонстрирующие морфологические особенности клеточного ответа, специфичного для образца.

Специфичные клеточные субпопуляции должны быть распознаваемыми. Изображения должны включать масштабный отрезок с указанием увеличения.

Определяют клеточный критерий и характеристики, используемые для распознавания воспаления, результаты представляют качественно и количественно. Пример системы оценки воспалительных изменений в нервной ткани приведен в таблице Е.4

Клеточный критерий — основной тип или типы клеток или структур, задействованных в биологической реакции, такие как астроциты, нейтрофилы, клетки микроглии, фиброзы и миелин. Определяют характеристики морфологического ответа микроглии и астроцитов, такие как обеспечение транспорта веществ, гипертрофия, снижение рамификаций в прогрессии амебоидной морфологии для идентификации стадии реакции микроглии. Определяют наличие макрофагоподобных клеток. По показаниям применяют клеточно-специфичное окрашивание.

Следует обратить внимание на следующие особенности тканей, окружающих образец:

a) нарушение нейрональных процессов вокруг образца;

b) зона астроцитоза и соединительной ткани вокруг образца;

c) увеличение числа крупных кровеносных сосудов;

d) инфильтрирующие лимфоциты;

e) активация микроглии — по особенности организации;

f) формирование капсулы, наличие гигантских клеток и макрофагов;

g) области минерализации/кальцификации;

h) изменения в эпендимальном слое и вышеуказанные изменения в арахноидальных грануляциях.

Рекомендуется дополнительно выполнить осмотр тканей головного мозга, прилегающих к месту введения образца (приблизительно 3 мм, ипсилатерально), и тканей головного мозга вдали от пути ввода имплантата.

Характеристики ткани головного мозга, прилегающей к пути ввода образца:

- воспалительные клетки/инфильтраты;
- геморрагия;
- некроз;
- глиоз, серое вещество;
- глиоз, белое вещество;
- другое.

К характеристикам ткани головного мозга вдали от пути ввода образца относят другие нелокальные эффекты для каждого животного.

D.9 Отчет об исследовании

В отчет об исследовании включают полученные результаты и информацию в соответствии с разделом 6 и следующие дополнительные сведения:

- изображения с высоким разрешением, характеризующие ткани, окружающие участок имплантации;
- подробное описание каждого участка имплантации;
- результаты полуколичественной оценки.

Приложение Е
(справочное)

Примеры систем оценки местного биологического действия медицинских изделий после имплантации

Е.1 Общие положения

Примеры полуколичественных и количественных систем оценки приведены в [17], [18], [20], [25] и [26].

Для каждой оцениваемой гистологической характеристики (такой как образование капсулы, наличие процесса воспаления, полиморфноядерных клеток, гигантских клеток, плазматических клеток и/или деградации материала) используют полуколичественную систему оценки, которую описывают в отчете об исследовании. Выполняют оценку компонентов реакции и определяют степень всей реакции (класс реактивности).

Примеры некоторых полуколичественных систем оценки приведены ниже и в [21], [25], [26], [31] и [40]. Системы оценки, представленные в таблицах Е.1 и Е.2, можно преобразовать в систему оценки местного биологического действия имплантированных образцов, приведенную в таблице Е.3. Пример системы гистологической оценки реакций нервной ткани приведен в таблице Е.4.

В полуколичественной системе оценки инфильтраты воспалительных клеток и некроз определяют, используя схему подсчета, приведенную в таблице Е.1. Неоваскуляризацию, фиброз и жировую инфильтрацию определяют, используя схему подсчета, приведенную в таблице Е.2. Приведенные в таблице Е.3 значения в баллах инфильтратов воспалительных клеток и некроза (см. таблицу Е.1) умножены на 2 с целью наглядного представления данных по сравнению со значениями в баллах неоваскуляризации, фиброза и жировой инфильтрации (см. таблицу Е.2). Полученные баллы складывают и затем вычисляют средние баллы исследуемого и контрольного образцов. Средний балл контрольного образца вычитают из среднего балла исследуемого образца и определяют класс реактивности в соответствии со шкалой, приведенной в таблице Е.3.

В отчет об исследовании включают описание реакции каждого типа клеток и неоваскуляризации. Для каждого типа клеток, при значительной разнице значений исследуемого и контрольного образцов, в отчете об исследовании приводят обоснование значимости разницы.

Примеры систем, используемых для оценки биологического действия резорбируемых материалов, приведены в [20].

Таблица Е.1 — Пример гистологической системы оценки — Тип клетки/реакция

<table>
<tr><th rowspan="2">Тип клетки/реакция</th><th colspan="5">Балл</th></tr>
<tr><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th></tr>
<tr><td>Полиморфноядерные клетки</td><td>0</td><td rowspan="4">Редко, 1—5[a]</td><td rowspan="4">5—10[a]</td><td rowspan="5">Обильный инфильтрат</td><td rowspan="4">Плотно упакованные</td></tr>
<tr><td>Лимфоциты</td><td>0</td></tr>
<tr><td>Плазменные клетки</td><td>0</td></tr>
<tr><td>Макрофаги</td><td>0</td></tr>
<tr><td>Гигантские клетки</td><td>0</td><td>Редко, 1—2[a]</td><td>3—5[a]</td><td>Пласты</td></tr>
<tr><td>Некроз</td><td>0</td><td>Минимальный</td><td>Легкий</td><td>Умеренный</td><td>Тяжелый</td></tr>
<tr><td colspan="6">[a] Число клеток на одно поле при увеличении 400 крат.</td></tr>
</table>

Таблица Е.2 — Пример гистологической системы оценки — Реакция ткани

<table>
<tr><th rowspan="2">Реакция</th><th colspan="5">Балл</th></tr>
<tr><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th></tr>
<tr><td>Неоваскуляризация</td><td>0</td><td>Минимальная капиллярная пролиферация, 1—3 очага неоваскуляризации</td><td>Группы от 4 до 7 капилляров с окружающими фибробластными структурами</td><td>Широкая полоса капилляров с окружающими фибробластными структурами</td><td>Обширная полоса капилляров с окружающими фибробластными структурами</td></tr>
<tr><td>Фиброз</td><td>0</td><td>Узкая полоса</td><td>Умеренно широкая полоса</td><td>Широкая полоса</td><td>Обширная полоса</td></tr>
</table>

Окончание таблицы Е.2

Реакция	Балл				
	0	1	2	3	4
Жировой инфильтрат	0	Минимальное количество жира, связанного с фиброзом	Несколько слоев жира и фиброза	Протяженное и обширное накопление жировых клеток вокруг места имплантата	Обширный жир, полностью окружающий имплантат

Таблица Е.3 — Пример полуколичественной системы оценки

Исследуемый образец:	Полимер XYZ					
Продолжительность наблюдений после имплантации:	Две недели					
Контрольный образец:	ПЭНД					
Номер животного	Исследуемый образец			Контрольный образец		
	1001	1002	1003	1001	1002	1003
F.1 Воспаление						
Полиморфноядерные клетки	2	1	2	1	1	1
Лимфоциты	1	1	0	0	1	0
Плазматические клетки	0	0	0	0	0	0
Макрофаги	2	2	2	1	1	1
Гигантские клетки	1	1	1	0	0	0
Некроз	0	0	0	0	0	0
Промежуточный итог (x2)	12	10	10	4	6	4
F.2 Неоваскуляризация	0	0	0	0	0	0
Фиброз	1	1	1	1	1	1
Жировой инфильтрат	0	0	0	0	0	0
Промежуточный итог	1	1	1	1	1	1
Итог (F.1 и F.2)	13	11	11	5	7	5
Итог группы	35			17		
Средний балл[a]	11,7 (—)			5,7 = 6		
Травматический некроз	0	0	0	0	0	0
Инородные вещества	0	0	0	0	0	0
Количество исследованных имплантированных образцов[b]	4	4	4	4	4	4

[a] Используют для определения класса реактивности биоматериала, который указывают в заключении (см. ниже). Отрицательное значение, полученное при определении разницы, фиксируют как нуль.

[b] Результатом гистологической оценки является средний балл для животного по количеству исследованных имплантированных образцов.

Примечание — Могут потребоваться дополнительные наблюдения для деградируемых материалов, т. е. определение степени деградации.

Е.2 Заключение

По результатам оценки указывают реакцию ткани на имплантацию образца и класс реактивности (в баллах) по сравнению с отрицательным контрольным образцом (см. таблицу Е.3):

- отсутствие реакции или минимальная (от 0,0 до 2,9), легкая реакция (от 3,0 до 8,9 включительно);
- умеренная реакция (от 9,0 до 15,0 включительно);
- серьезная реакция (более 15,1 включительно).

Е.3 Дополнительные сведения

В отчет об исследовании допускается включать дополнительные сведения, необходимые для описания наблюдений за ответом тканей и/или изменениями имплантированного образца, если применимо.

Таблица Е.4 — Пример гистологической системы оценки — Реакция нервных тканей

<table>
<tr><th rowspan="2">Гистологическая характеристика</th><th colspan="5">Балл</th></tr>
<tr><th>0</th><th>1</th><th>2</th><th>3</th><th>4</th></tr>
<tr><td>Тип/ответ воспалительных клеток
- полиморфноядерные клетки;
- лимфоциты</td><td rowspan="3">0</td><td rowspan="3">Редко, от 1 до 5[a]</td><td rowspan="3">Редко, от 5 до 10[a]</td><td rowspan="4">Умеренный инфильтрат</td><td rowspan="4">Явный инфильтрат</td></tr>
<tr><td>Плазматические клетки</td></tr>
<tr><td>Макрофаги/микроглиальные клетки</td></tr>
<tr><td>Многоядерные гигантские клетки (MGC)</td><td>0</td><td>Редко, от 1 до 2[a]</td><td>Редко, от 3 до 5[a]</td></tr>
<tr><td>Некроз</td><td>0</td><td>Минимальный</td><td>Легкий</td><td>Умеренный</td><td>Тяжелый</td></tr>
<tr><td>Неоваскуляризация</td><td>0</td><td>Минимальная капиллярная пролиферация, 1—3 очага неоваскуляризации</td><td>Группы от 4 до 7 капилляров с поддерживающими фибробластными структурами</td><td>Широкая полоса капилляров с поддерживающими фибробластными структурами</td><td>Обширная полоса капилляров с поддерживающими фибробластными структурами</td></tr>
<tr><td>Фиброз</td><td rowspan="2">0</td><td rowspan="2">Узкая полоса</td><td rowspan="2">Умеренно толстая полоса</td><td rowspan="2">Толстая полоса</td><td rowspan="2">Обширная полоса</td></tr>
<tr><td>Астроцитоз/жировой инфильтрат</td></tr>
<tr><td colspan="6">[a] Число клеток на одно поле при увеличении 400 крат.</td></tr>
</table>

Приложение ДА
(справочное)

Сведения о соответствии ссылочных международных стандартов межгосударственным стандартам

Таблица ДА.1

Обозначение ссылочного международного стандарта	Степень соответствия	Обозначение и наименование соответствующего межгосударственного стандарта
ISO 10993-1	IDT	ГОСТ ISO 10993-1— 2021 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 1. Оценка и исследования в процессе менеджмента риска»
ISO 10993-2	—	*
ISO 10993-4	IDT	ГОСТ ISO 10993-4—2020 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 4. Исследования изделий, взаимодействующих с кровью»
ИСО 10993-12	IDT	ГОСТ ISO 10993-12—2015 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 12. Приготовление проб и контрольные образцы»
ISO 10993-16	IDT	ГОСТ ISO 10993-16—2021 «Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 16. Концепция токсикокинетических исследований продуктов деградации и выщелачиваемых веществ»

* Соответствующий межгосударственный стандарт отсутствует. До его утверждения рекомендуется использовать перевод на русский язык данного международного стандарта.

Примечание — В настоящем стандарте использовано следующее условное обозначение степени соответствия стандартов:

- IDT — идентичные стандарты.

Библиография

[1] ISO 5832-1, Implants for surgery — Metallic materials — Part 1: Wrought stainless steel (Имплантаты для хирургии. Металлические материалы. Часть 1. Деформируемая нержавеющая сталь)

[2] ISO 5832-2, Implants for surgery — Metallic materials — Part 2: Unalloyed titanium (Имплантаты для хирургии. Металлические материалы. Часть 2. Нелегированный титан)

[3] ISO 5832-3, Implants for surgery — Metallic materials — Part 3: Wrought titanium 6-aluminium 4-vanadium alloy (Имплантаты для хирургии. Металлические материалы. Часть 3. Деформируемый сплав на основе титана, 6-алюминия и 4-ванадия)

[4] ISO 5832-4, Implants for surgery — Metallic materials — Part 4: Cobalt-chromium-molybdenum casting alloy (Имплантаты для хирургии. Металлические материалы. Часть 4. Литейный сплав кобальта, хрома и молибдена)

[5] ISO 5832-5, Implants for surgery — Metallic materials — Part 5: Wrought cobalt-chromium-tungsten-nickel alloy (Имплантаты для хирургии. Металлические материалы. Часть 5. Деформируемый сплав на основе кобальта, хрома, вольфрама и никеля)

[6] ISO 5832-6, Implants for surgery — Metallic materials — Part 6: Wrought cobalt-nickel-chromium-molybdenum alloy (Имплантаты для хирургии. Металлические материалы. Часть 6. Деформируемый сплав на основе кобальта, никеля, хрома и молибдена)

[7] ISO 5832-7, Implants for surgery — Metallic materials — Part 7: Forgeable and cold-formed cobalt-chromium-nickel-molybdenum-iron alloy (Имплантаты для хирургии. Металлические материалы. Часть 7. Сплав кобальт-хром-никель-молибденовый, содержащий железо, ковкий и холоднодеформируемый)

[8] ISO 5832-8, Implants for surgery — Metallic materials — Part 8: Wrought cobalt-nickel-chromium-molybdenum-tungsten-iron alloy (Имплантаты для хирургии. Металлические материалы. Часть 8. Деформируемый сплав на основе кобальта, никеля, хрома, молибдена, вольфрама и железа)

[9] ISO 5834-2, Implants for surgery — Ultra-high-molecular-weight polyethylene — Part 2: Moulded forms (Имплантаты для хирургии. Полиэтилен сверхвысокой молекулярной массы. Часть 2. Литейные формы)

[10] ISO 6474-1, Implants for surgery — Ceramic materials — Part 1: Ceramic materials based on high purity alumina (Имплантаты для хирургии. Керамические материалы. Часть 1. Керамические материалы на основе оксида алюминия высокой чистоты)

[11] ISO 6474-2, Implants for surgery — Ceramic materials — Part 2: Composite materials based on a high-purity alumina matrix with zirconia reinforcement (Имплантаты для хирургии. Керамические материалы. Часть 2. Композитные материалы на основе оксида алюминия высокой чистоты с усилением цирконием)

[12] ISO 7405, Dentistry — Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry (Стоматология. Оценка биологической совместимости медицинских изделий, используемых в стоматологии)

[13] ISO 10993-9, Biological evaluation of medical devices — Part 9: Framework for identification and quantification of potential degradation products (Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 9. Основные принципы идентификации и количественного определения потенциальных продуктов деградации)

[14] ASTM F748, Standard Practice for Selecting Generic Biological Test Methods for Materials and Devices

[15] ASTM F763, Standard Practice for Short-Term Screening of Implant Materials

[16] ASTM F981, Standard Practice for Assessment of Compatibility of Biomaterials for Surgical Implants with Respect to Effect of Materials on Muscle and Bone

[17] ASTM F1983, Standard Practice for Assessment of Selected Tissue Effects of Absorbable Biomaterials for Implant Applications

[18] MHLW Notification, Basic Principles of Biological Safety Evaluation Required for Application for Approval to Market Medical Devices: YAKUSHOKUKI-HATSU 0301 No. 20 (2012.03.01)

[19] Cohen J. Assay of Foreign-Body Reaction. Journal of Bone and Joint Surgery. 1959, 41A pp. 152—166

[20] De Jong W.H., Bergsma J.E., Robinson J.E., Bos R.R.M. Tissue response to partially *in vitro* predegraded poly-L-lactide implants. *Biomaterials*. 2005, 26 pp. 1781—1791

[21] Wise D.L. et al., edsWallin R.F., & Upman P.J. Evaluating the Biological Effects of Medical Devices and Materials, Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering, Part A. Marcel Dekker Inc, New York, Vol. 1, 1995, pp. 422—4

[22] Ferguson A.B., Laing P.G., Hodge E.S. The Ionization of Metal Implants in Living Tissues. Journal of Bone and Joint Surgery. 1960, 42A pp. 77—90

[23] Geret V., Rahn B.A., Mathys R., Straumann F., Perren S.M. In: *In vivo* Testing of Tissue Tolerance of Implant Materials: Improved Quantitative Evaluation through Reduction of Relative Motion at the Implant Tissue Interface, from Current Concepts of Internal Fixation of Fracture. (Uhthoff H.K. ed.). Springer Verlag, 1980

[24] Geret V., Rahn B.A., Mathys R., Straumann F., Perren S.M. Chapter 35: A Method for Testing Tissue Tolerance for Improved Quantitative Evaluation Through Reduction of Relative Motion at the Implant-Tissue Interface. Evaluation of Biomaterials. (Winter G.D., Leray J.L., de Groot K. eds.), John Wiley & Sons Ltd., 1980

[25] Ikarashi Y., Toyoda K., Ohsawa N., Uchima T., Tsuchiya T., Kaniwa M. Comparative Studies by Cell Culture and *in vivo* Implantation Test on the Toxicity of Natural Rubber Latex Materials. J. Biomed. Mater. Res. 1992, 26 pp. 339—356

[26] Ikarashi Y., Tsuchiya T., Toyoda K., Kobayashi E., Doi H., Yoneyama T. Tissue Reactions and Sensitivity to Iron Chromium Alloys. Mater. Trans. 2002, 43 pp. 3065—3071

[27] Kaminski E.J., Oglesby R.J., Wood N.K., Sandrik J. The Behaviour of Biological Materials at Different Sites of Implantation. J. Biomed. Mater. Res. 1968, 2 pp. 81—88

[28] Laing P.G., Ferguson A.B., Hodge E.S. Tissue Reaction in Rabbit Muscle Exposed to Metallic Implants. J. Biomed. Mater. Res. 1967, 1 pp. 135—149

[29] Langeland K., Guttuso J., Langeland L.L., Tobon G. Methods in the study of biological response to endodontic materials. Tissue response to N2 (root canal sealer). Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1969, 27 pp. 522—542

[30] Preul M.C., Bichard W.D., Muench T., Spetzler R.F. Toward optimal tissue sealants for neurosurgery: use of a novel hydrogel in a canine durotomy repair model. Neurosurgery. 2003, 53 pp. 1189—1198

[31] Rahn B.A., Geret V., Capaul C., Lardi M., Solothurnmann B Morphometric Evaluation of Tissue Reaction to Implants Using Low Cost Digitizing Techniques, Clinical Applications of Biomaterials, (Lee A.J.C., Albrektsson T., Branemark P.I. eds.), John Wiley & Sons Ltd., 1982

[32] Tilney N.L. Patterns of lymphatic drainage in the adult laboratory rat. J. Anat. 1971, 109 (3) pp. 369—383

[33] Torneck C.D. Reaction of Rat Connective Tissue to Polyethylene Tube Implants: Part I. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1966, 21 pp. 379—387

[34] Torneck C.D. Reaction of Rat Connective Tissue to Polyethylene Tube Implants: Part II. Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol. 1967, 24 pp. 674—683

[35] Turner E., Lawrence W.H., Autian J. Subacute Toxicity Testing of Biomaterials Using Histological Evaluation of Rabbit Muscle Tissue. J. Biomed. Mater. Res. 1973, 7 pp. 39—58

[36] Upman P.J. Toxicity Testing (of medical devices), Handbook of Biomaterials Evaluation, A. Von Recum (ed.), 2nd ed., Taylor & Francis, 1998, pp. 285—286

[37] Upman P.J., & Muench T. Comprehensive Histopathology Scoring System for Biomaterial Implants, Am. College of Toxicology meeting, Palm Springs, CA, Nov 7-10, 2004; Abstract published. Int. J. Toxicol. 2004, 23 p. 384

[38] US FDA-CDRH. Guidance document for testing biodegradable polymer implant devices (DRAFT); available under: www.fda.gov/MedicalDevices/ DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm080265.htm

[39] U.S. Pharmacopeia, Biological reactivity tests, *in vivo*

[40] Pizzoferrato A., Savarino L., Stea S., Tarabusi C. Result of Histological Grading on 100 cases of Hip Prosthesis Failure. Biomaterials. 1988, 9 pp. 314—318

[41] Yamada T., Nakaoka R., Sawada R., Matsuoka A., Tsuchiya T. Effects of Intracerebral Microinjection of Hydroxylated — [60]Fullerence on Brain Monoamine Concentrations and Locomotor Behaviour in Rats. J. Nanotechnol. 2009, 9 pp. 1—8

[42] Fanning N.F., Willinsky R.A., ter Brugge K.G. Wall Enhancement, Edema, and Hydrocephalus After Endovascular Coil Occlusion of Intradural Cerebral Aneurysms. J. Neurosurg. 2008, 108 (6) pp. 1074—1086

[43] Wiesenfeld-Hallin Z. Sex differences in pain perception. Gend. Med. 2005, 2 (3) pp. 137—145

[44] Exploring the Biological Contribution to Human Health. In: Does Sex MatterWizemann T.M., & Pardue M.L. eds.). Institute of Medicine, National Academy Press, 2001

[45] Carmichael N.M., Charlton M.P., Dostrovsky J.O. Sex Differences in Inflammation Evoked by Noxious Chemical, Heat and Electrical Stimulation. Brain Res. 2009, 1276 pp. 103—111

[46] Bolon B. «Current Pathology Techniques» Symposium Review: Advances and Issues in Neuropathology. Toxicol. Pathol. 2008, 36 pp. 871—889

[47] ISO 11979-5, Ophthalmic implants — Intraocular lenses — Part 5: Biocompatibility (Имплантаты офтальмологические. Интраокулярные линзы. Часть 5. Биологическая совместимость)

[48] Polikov V.S., Tresco P.A., Reichert W.M. Response of Brain Tissue to Chronically Implanted Neural Electrodes. J. Neurosci. Methods. 2005, 148 pp. 1——18

[49] Tikka T., Fiebich B.L., Goldsteins G., Keinanen R., Koistinaho J. Minocycline, a Tetracycline Derivative, is Neuroprotective Against Excitotoxicity by Inhibiting Activation and Proliferation of Microglia. J. Neurosci. 2001, 15 pp. 2580—2588

[50] Jordan W.H., Young J.K., Hyten M.J., Hall D.G. Preparation and analysis of the central nervous system. Toxicol. Pathol. 2011, 39 pp. 58—65

[51] Therin M., Christel P., Meunier A. Analysis of the general features of the soft tissue response to some metals and ceramics using quantitative histomorphometry. J. Biomed. Mater. Res. 1994, 28 (11) pp. 1267—1276

[52] ISO 10993-11, Biological evaluation of medical devices — Part 11: Tests for systemic toxicity (Оценка биологического действия. Часть 11. Исследования общетоксического действия)

УДК 615.46:002:006.354 МКС 11.100.20 IDT

Ключевые слова: оценка биологического действия медицинских изделий, биоматериал, исследование местного действия после имплантации

Редактор *З.Н. Киселева*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *Е.Ю. Митрофанова*
Компьютерная верстка *Е.А. Кондрашовой*

Сдано в набор 12.11.2021. Подписано в печать 01.12.2021. Формат 60×84⅛. Гарнитура Ариал.
Усл. печ. л. 3,72. Уч.-изд. л. 3,38.

Подготовлено на основе электронной версии, предоставленной разработчиком стандарта

Создано в единичном исполнении в ФГБУ «РСТ»
для комплектования Федерального информационного фонда стандартов,
117418 Москва, Нахимовский пр-т, д. 31, к. 2.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru

Поправка к ГОСТ ISO 10993-6—2021 Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Часть 6. Исследования местного действия после имплантации

В каком месте	Напечатано	Должно быть		
Предисловие. Таблица согласования	—	Таджикистан	TJ	Таджикстандарт

(ИУС № 4 2022 г.)