

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Заместитель Министра –
Главный государственный
санитарный врач
Республики Беларусь



А.А.Тарасенко

« 19 » 12 2023 г.

Регистрационный № 008-1223

**МЕТОД *IN VITRO* ОПРЕДЕЛЕНИЯ РАЗДРАЖАЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ
НА СЛИЗИСТЫЕ ОБОЛОЧКИ ГЛАЗ ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО
НАЗНАЧЕНИЯ, МЕДИЦИНСКОЙ ТЕХНИКИ И МАТЕРИАЛОВ,
ПРИМЕНЯЕМЫХ ДЛЯ ИХ ИЗГОТОВЛЕНИЯ**

(инструкция по применению)

УЧРЕЖДЕНИЕ-РАЗРАБОТЧИК: республиканское унитарное
предприятие «Научно-практический центр гигиены»

АВТОРЫ: канд. биол. наук Эрм Г.И., д-р мед. наук, профессор
Шевляков В.В., Баранов С.А., канд. мед. наук Богданов Р.В., канд. мед.
наук Чернышова Е.В., Буйницкая А.В.

Минск, 2023

ГЛАВА 1

НАЗНАЧЕНИЕ И ОБЛАСТЬ ПРИМЕНЕНИЯ

1. В настоящей инструкции по применению (далее – Инструкция) изложен метод определения и оценки показателей раздражающего действия изделий медицинского назначения, медицинской техники и материалов, применяемых для их изготовления, на слизистые оболочки глаз, полученных альтернативным методом *in vitro* с использованием хориоаллантоисной мембраны куриного эмбриона.

Метод распространяется на изделия медицинского назначения, контактирующие со слизистыми оболочками, внутренней средой организма, системой кровообращения, материалы и изделия для имплантации и офтальмологии, стоматологические и пломбировочные материалы, принадлежности и расходные материалы медицинских приборов и оборудования, и прочие.

2. Настоящая Инструкция предназначена для специалистов организаций здравоохранения, в том числе органов и учреждений, осуществляющих государственный санитарный надзор, государственных медицинских научных организаций, учреждений образования, имеющих кафедры по подготовке, переподготовке и повышению квалификации специалистов с высшим образованием в области гигиены и профилактической медицины.

3. Настоящая Инструкция вступает в силу с даты ее утверждения.

ГЛАВА 2

ОБЩИЕ ПОЛОЖЕНИЯ

4. Для целей настоящей Инструкции используются следующие термины и их определения:

гиперемия – увеличение кровенаполнения в каком-либо участке периферической сосудистой системы;

доза – точно отмеренное количество испытуемой пробы (см³; г);

испытуемая проба – подготовленная проба, подвергаемая испытанию по параметрам токсиколого-гигиенической безопасности;

испытуемый образец – продукция, поступившая на испытания;

контрольная проба – проба, используемая для сравнения с испытуемой пробой и подвергаемая испытанию в соответствии с той же процедурой анализа, что и испытуемая проба испытуемого образца;

растворитель – вещество, используемое для разбавления, суспензирования, экстрагирования или растворения испытуемого образца.

5. Сущность метода оценки раздражающего действия продукции с использованием хориоаллантоисной мембраны куриного эмбриона заключается в определении возникновения и выраженности повреждения хориоаллантоисной мембраны (увеличение сети капилляров, гиперемия, точечные и крупные кровоизлияния и другие) в ответ на воздействие испытуемой пробы, что является показателем потенциальной способности исследуемой продукции повреждать слизистые оболочки (в частности, глаз).

ГЛАВА 3

ПОДГОТОВКА К ИСПЫТАНИЯМ

6. Приготовление раствора хлористого натрия (NaCl) с массовой долей 0,9 % в дистиллированной воде (физиологический раствор).

Для приготовления раствора NaCl с массовой долей 0,9 % в стеклянную емкость помещают 9,0 г хлорида натрия и доводят объем дистиллированной водой до 1 дм³. Хорошо перемешивают. Хранят в сосуде из стекла в холодильнике от +6 °С до +8 °С.

7. Приготовление испытуемой пробы

7.1. Приготовление испытуемой пробы проводят в зависимости от вида и продолжительности контакта медицинского изделия с организмом человека, условий их медицинского использования в соответствии с Приложением к настоящей Инструкции.

При выборе условий экстракции учитывают назначение изделия, физико-химические свойства материалов изделия, продолжительность их контакта с организмом человека (кратковременный, длительный, постоянный), видом контакта (с кожей, слизистыми оболочками или внутренней средой; непосредственно или опосредованно). Условия проведения экстракции имитируют время и температуру воздействия при применении медицинского изделия.

7.2. Испытанию подвергают изделия в готовом к применению виде, или материалы, обработанные так же, как и готовое изделие, или репрезентативные части/детали готового к применению медицинского изделия, или соответствующие экстракты из них.

Если невозможно провести исследование целого изделия, то каждую отдельную часть готового к применению изделия представляют в исследуемой пробе в соответствующих пропорциях.

Композитные материалы испытывают как конечные изделия.

Продукцию вязкой консистенции (пасты, гели, кремы) испытывают в нативном виде, порошки – в виде 50 % раствора. В качестве растворителя используют дистиллированную воду или раствор NaCl с массовой долей 0,9 %.

7.3. Экспозиция в зависимости от времени контакта медицинского изделия с организмом человека составляет:

4 часа при длительности контакта не более 10 минут;

24 часа при длительности контакта не более 24 часов;

72 часа при длительности контакта более 24 часов.

В случае, если стандартные условия моделирования неприемлемы, но условия клинического применения изделия определены в инструктивном документе, выбирают условия проведения экстракции, имитирующие время и температуру воздействия при применении медицинского изделия. Соотношение площади поверхности (массы) образца к объему модельной среды при экстрагировании 3 см²/мл (0,1 г/мл – при неравномерной толщине изделия).

8. Подготовка куриных яиц.

Испытания проводят на фертильных куриных яйцах (не менее трех) массой от 50 до 60 г., в качестве контроля используют куриные яйца (не менее трех) с такими же характеристиками (в трех повторностях).

Ровно размещают 1-3-дневные куриные яйца тупыми концами вверх на лотках инкубатора с автоматическим вращающимся элементом при $(38,5 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ и относительной влажности $(62,2 \pm 7,5) \%$. Вращение необходимо для предотвращения прилипания эмбриона к одной стороне яйца.

Контроль температуры и влажности осуществляется в одно и то же время каждый день.

После закладки 6–7-дневные куриные яйца просвечивают при помощи люминесцентной лампы для обеспечения оптимального освещения. При нормальном развитии зародыша на желтке видна хорошо развитая кровеносная система, а зародыш едва различим, так как он глубоко погружен в желток. При отсталом развитии зародыш лежит под скорлупой, кровеносная система на желтке развита слабо.

Отбраковывают яйца неоплодотворенные, тухлые, с нежизнеспособными, погибшими в первые дни инкубации или уже после развития кровеносной системы (кровяные кольца) зародышами.

На девятый день яйца повторно просвечивают, отбраковывают все нежизнеспособные и опять помещают тупыми концами вверх в инкубатор без вращения, тем самым обеспечивая доступность хориоаллантаисной мембраны.

Не допускается взбалтывание, излишний наклон и любые другие механические раздражения куриных яиц при их подготовке для проведения испытаний.

ГЛАВА 4

ПОСТАНОВКА МЕТОДА

9. Проведение испытаний.

На десятый день поочередно каждое куриное яйцо помещают на подставку для яиц тупым концом вверх. Маркером отмечают воздушную полость, медицинским пинцетом удаляют отмеченный участок скорлупы, освобождая от нее воздушную камеру. На поверхность подскорлуповой оболочки наносят 400 мм³ физиологического раствора (для предотвращения высыхания). Куриное яйцо помещают обратно в инкубатор с температурой $(38,5 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ и относительной влажностью $(62,2 \pm 7,5) \%$ на 20 мин для снятия травматического шока.

Последовательно с интервалом в 3–5 мин готовят 6 куриных яиц.

Шесть вскрытых куриных яиц последовательно, соблюдая интервал в 3–5 мин, извлекают из инкубатора, удаляют пинцетом подскорлуповую оболочку так, чтобы не повредить хориоаллантаисную мембрану. Если происходит повреждение хориоаллантаисной мембраны или возникают кровотечения, то эмбрион отбраковывают.

На освобожденную хориоаллантаисную мембрану трех из подготовленных куриных эмбрионов наносят испытуемую пробу в дозе

0,05 г (см³), на оставшиеся три (контроль) наносят раствор NaCl с массовой долей 0,9 % или медицинское вазелиновое масло в том же объеме.

Через 5 мин испытуемую пробу аккуратно смывают физиологическим раствором и регистрируют реакцию хориоаллантоисной мембраны.

10. Обработка и оценка результатов.

По изменению, которое может возникнуть в хориоаллантоисной мембране куриного эмбриона (увеличение сети капилляров, точечные и крупные кровоизлияния) при нанесении на нее испытуемой пробы, судят о ее потенциальной способности вызывать раздражение.

Оценку выраженности раздражающего действия испытуемого образца на хориоаллантоисную мембрану куриного эмбриона проводят согласно шкале (таблица).

Таблица — Шкала оценки выраженности раздражающего действия испытуемого образца на хориоаллантоисную мембрану куриного эмбриона

Критерии оценки повреждений хориоаллантоисной мембраны	Оценка в баллах	Выраженность раздражающего действия
Отсутствие видимой гиперемии, четкий сосудистый рисунок	0	Отсутствие
Увеличение сети капилляров, сосуды инъецированы (расширены)	1	Слабое
Точечные кровоизлияния, отдельные сосуды трудно различимы	2	Умеренное
Крупные кровоизлияния, диффузное глубокое покраснение	3	Выраженное
Денатурация белка (внутрисосудистая и внесосудистая)	4	Резко выраженное

Индекс раздражающего действия испытуемой продукции на хориоаллантаисную мембрану куриного эмбриона I_{cam} в баллах вычисляют по формуле:

$$I_{cam} = (R_o - R_k)_1 + (R_o - R_k)_2 + \dots + (R_o - R_k)_n / n,$$

где R — выраженность повреждения мембраны в баллах на опытном и контрольном куриных эмбрионах;
 o — опытный куриный эмбрион;
 k — контрольный куриный эмбрион;
 $1, 2, \dots, n$ — порядковый номер куриного эмбриона (повторности);
 n — количество куриных эмбрионов.

За результат испытаний каждого образца принимают среднее значение суммы каждой повторности, в которой определяется величина эритемы в баллах по разнице симптома раздражающего действия между опытом и контролем.

11. Интерпретация полученных результатов.

Раздражающее действие у испытуемого образца отсутствует, если значение индекса раздражающего действия испытуемой продукции на хориоаллантаисную мембрану куриного эмбриона I_{cam} равно нулю или менее 1,0 балла. Если значение индекса I_{cam} равно или более 1,0 балла (2,0 балла, 3,0 балла, 4,0 балла), то испытуемый образец обладает раздражающим действием на хориоаллантаисную мембрану.

Приложение
к Инструкции по применению
«Метод *in vitro* определения раздражающего
действия на слизистые оболочки глаз
изделий медицинского назначения,
медицинской техники и материалов,
применяемых для их изготовления»
(Обязательное)

УСЛОВИЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ ВЫТЯЖЕК ДЛЯ РАЗЛИЧНЫХ ГРУПП МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ

Тип взаимодействия	Вид изделий	Модельная среда	Соотношение площади поверхности или массы, или количества образцов к объему модельной среды (S/V – см ² /см ³ или M/V – г/см ³ , или N/V – шт./см ³)	Температура экстракции, °С	Продолжительность экстракции ч
1	2	3	4	5	6
Медицинские изделия с низкой степенью риска – класс 1					
Изделия, контактирующие с неповрежденной кожей и слизистыми оболочками (кратковременного контакта)	Неинвазивные электроды, датчики, манжеты для тонометров, стетофонендоскопы, и другие	Дистиллированная вода	1 см ² /10 см ³	37 ± 1	2 ± 0,1
	Медицинские (санитарные) сумки	Дистиллированная вода	1 см ² /10 см ³	23 ± 1	4 ± 0,2
	Вспомогательные стоматологические инструменты и материалы слепочные и абразивные (моделировочные, формовочные) и другие	Дистиллированная вода	0,1 г/1 см	37 ± 1	4 ± 0,2

1	2	3	4	5	6
	Приборы для исследования бинокулярного и стереоскопического зрения, наборы пробных очковых линз и призм, и другие	Дистиллированная вода	0,1 г/1 см ³	37 ± 1	4 ± 0,2
	Перчатки диагностические, анатомические	Дистиллированная вода	1 см ² /1 см ³	37 ± 1	24 ± 2
Изделия, контактирующие с неповрежденной кожей и слизистыми оболочками (длительного контакта)	Изделия для фиксации, иммобилизации (пластыри, пленки, перевязочные материалы, эластичные бинты, фиксирующие ленты, бандажные изделия) и другие	Дистиллированная вода	1 см ² /1 см ³	37 ± 1	24 ± 2
	Изделия для наружного протезирования (корсеты, гильзы протезов, протезы молочной железы и фаллопротезы, другие протезы)	Дистиллированная вода	1 см ² /2 см ³	37 ± 1	24 ± 2
	Постельное белье, одежда медицинского персонала, подкладочные клеенки, лечебное белье (чулки, носки, гольфы, трусы, пояса, бандажи), белье хирургическое	Дистиллированная вода	1 см ² /10 см ³	37 ± 1	24 ± 2
	Моче- и калоприемники	Дистиллированная вода	1 см ² /5 см ³	37 ± 1	72 ± 2
	Клипсы, браслеты, грелки	Дистиллированная вода	1 см ² /10 см ³	37 ± 1	24 ± 2
	Очки корректирующие	Дистиллированная вода	3 шт./500 см ³	37 ± 1	24 ± 2
	Линзы очковые	Дистиллированная вода	3 шт./500 см ³	37 ± 1	24 ± 2
	Линзы контактные	Дистиллированная вода	1 см ² /1 см ³	37 ± 1	24 ± 2

1	2	3	4	5	6
	Электроды мониторов различных типов, для диагностической и терапевтической аппаратуры	Дистиллированная вода	$1 \text{ см}^2/10 \text{ см}^3$	37 ± 1	24 ± 2
	Маски от наркозно-дыхательной аппаратуры	Дистиллированная вода	$1 \text{ см}^2/10 \text{ см}^3$	37 ± 1	24 ± 2
	Слуховые аппараты	Дистиллированная вода	$0,1 \text{ г/1 см}^3$	37 ± 1	24 ± 2
Медицинские изделия со средней степенью риска – класс 2а					
Изделия, контактирующие с поврежденными или подверженными опасности повреждениями кожи и слизистыми оболочками кратковременного контакта	Гинекологические, урологические, стоматологические инструменты; перчатки смотровые, хирургические	Дистиллированная вода	$1 \text{ см}^2/10 \text{ см}^3$ или $0,1 \text{ г/1 см}^3$	37 ± 1	24 ± 2
	Внутрикишечные инструменты и устройства (желудочные зонды, сигмоидоскопы, колоноскопы, гастроскопы), эндотрахеальные зонды, эндоскопы, бронхоскопы, другие	Дистиллированная вода	1 шт./50 см^3	37 ± 1	$2 \pm 0,1$
Изделия, контактирующие с поврежденными или подверженными опасности повреждениями кожи и слизистыми оболочками длительного контакта	Стоматологические коронки, съемные зубные протезы и другие изделия для ортодонтии, конструкционные стоматологические материалы	Дистиллированная вода	$1 \text{ см}^2/10 \text{ см}^3$ или $0,1 \text{ г/1 см}^3$	37 ± 1	24 ± 2
	Внутривагинальные изделия, мочевыводящие катетеры и другие	0,9% раствор хлористого натрия	$0,1 \text{ г/1 см}^3$	37 ± 1	72 ± 2
	Насадки от наркозно-дыхательной аппаратуры	Дистиллированная вода	$1 \text{ см}^2/10 \text{ см}^3$ или $0,1 \text{ г/1 см}^3$	37 ± 1	72 ± 2
	Средства на кожного применения: перевязочные, противоожоговые, дренажные, впитывающие материалы (перевязочные пакеты, бинт, марля, салфетки и другие), сорбенты для лечения ран; противоожоговые кровати, прочие	0,9% раствор хлористого натрия	$1 \text{ см}^2/10 \text{ см}^3$ или $0,1 \text{ г/1 см}^3$	37 ± 1	72 ± 2

1	2	3	4	5	6
	Вата медицинская	Дистиллированная вода	1 г / 200 см ³	кипячение	в течение 15 минут
Медицинские изделия со средней степенью риска – класс 2б					
Изделия, контактирующие с поврежденной кожей и слизистыми оболочками кратковременного контакта	Жёсткие и гибкие эндоскопы, хирургические отсасыватели, катетеры, зонды	0,9% раствор хлористого натрия	1 см ² /10 см ³ или 0,1 г/1 см ³	37 ± 1	24 ± 2
	Хирургические инструменты различного назначения, лапароскопы, артроскопы, и другие	0,9% раствор хлористого натрия	1 см ² /10 см ³ или 0,1 г/1 см ³	37 ± 1	24 ± 2
	Устройства взятия крови, иглы инъекционные	Дистиллированная вода	1 шт./5 см ³	37 ± 1	1 ± 0,1
	Шприцы инъекционные	Дистиллированная вода	Полное заполнение	37 ± 1	1 ± 0,1
Изделия, контактирующие с поврежденной кожей и слизистыми оболочками длительного контакта	Устройства для введения растворов, переливания крови, устройства для фильтрации крови и ее препаратов, катетеры сосудистые, оклюдеры и другие	Дистиллированная вода	$P = \frac{M}{V} \times K *$	37 ± 1	72 ± 2
	Диализаторы и магистрали кровопроводящие, оксигенаторы	Дистиллированная вода	$P = \frac{M}{V} \times K *$	37 ± 1	72 ± 2
	Контейнеры и емкости для хранения и транспортировки крови, ее компонентов, сухих и жидких кровезаменителей; диализаторы; гемо- и иммуносорбенты, лимфосорбенты	0,9% раствор хлористого натрия	$P = \frac{M}{V} \times K *$	37 ± 1	240 ± 4
	Шовный хирургический материал (нити хирургические, кетгут);	0,9% раствор хлористого натрия	0,4 см / 1 см ³	37 ± 1	240 ± 4

1	2	3	4	5	6
	Кардиостимуляторы, внутриматочные спирали, системы дренирования, и другие	0,9% раствор хлористого натрия	$P = \frac{M}{V} \times K^*$	37 ± 1	240 ± 4
	Нервно-мышечные датчики и стимуляторы	0,9% раствор хлористого натрия	$P = \frac{M}{V} \times K^*$	37 ± 1	240 ± 4
	Нейрохирургические и сосудистые клипсы, скобки сшивания, изделия (материалы) для соединения и склеивания тканей организма, для эмболизации сосудов	0,9% раствор хлористого натрия	$P = \frac{M}{V} \times K^*$	37 ± 1	240 ± 4
Медицинские изделия с высокой степенью риска – класс 3					
Имплантируемые медицинские изделия	Ортопедические шпильки, пластинки, искусственные связки, искусственные сухожилия, костные цементы, внутрикостные приспособления, имплантаты надкостницы, эндопротезы, эндокорректоры ортопедического назначения, и другие	0,9% раствор хлористого натрия	$P = \frac{M}{V} \times K^*$	37 ± 1	240 ± 4
	Имплантаты грудной железы, протезы гортани, протезы различных внутренних органов, материалы для пластики тканей, стоматологические имплантаты, офтальмологические имплантаты (интраокулярные линзы, склеропластический материал, антиглаукоматозные дренажи), электроды кардиостимулятора, искусственные артерио- и венозные фистулы, сердечные клапаны, трансплантаты сосудов, катетеры для введения лекарственных средств в кровеносное русло, стимуляторы желудочка сердца, протезы кровеносных сосудов и другие	0,9% раствор хлористого натрия	$P = \frac{M}{V} \times K^*$	37 ± 1	240 ± 4

1	2	3	4	5	6
Медицинские изделия опосредованного кратковременного контакта	Устройства для получения апиrogenной воды для растворов лекарственных средств, устройства для очистки лекарственных средств (ионообменные, фильтровальные)	Дистиллированная вода	1 см ² /10 см ³ или 0,1 г/1 см ³ , или полное заполнение	23 ± 1	24 ± 2
	Медицинская и лабораторная посуда	Дистиллированная вода	Полное напoлнение	23 ± 1	72 ± 2
Медицинские изделия опосредованного длительного контакта	Упаковка лекарственных средств	Дистиллированная вода	1 см ² /10 см ³ или 0,1 г/1 см ³ , или полное заполнение	23 ± 1	72 ± 2
	Элементы аппаратуры для стимуляции дыхания: бактериально-вирусные фильтры, одноразовые мембраны фильтров; адаптеры, дыхательный контур, системы приточной вентиляции операционных отделений с бактерицидными фильтрами;	Дистиллированная вода	1 см ² /10 см ³ или 0,1 г/1 см ³	23 ± 1	24 ± 2

Примечание: * $P = \frac{M}{V} \times K$, где

P – соотношение между массой образца и объемом модельной среды, в г/л;

M – максимальный расход материала на одного пациента, в граммах;

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

K – коэффициент аггравации, равный 10.