

**TCVN 7391-11 : 2007
ISO 10993-11 : 2006**

Xuất bản lần 1

**ĐÁNH GIÁ SINH HỌC ĐỐI VỚI TRANG THIẾT BỊ Y TẾ –
PHẦN 11: PHÉP THỬ ĐỘC TÍNH TOÀN THÂN**

*Biological evaluation of medical devices –
Part 11: Tests for systemic toxicity*

HÀ NỘI – 2007

Mục lục

Trang

Lời nói đầu	4
Lời giới thiệu.....	5
1 Phạm vi áp dụng	7
2 Tài liệu viện dẫn	7
3 Thuật ngữ, định nghĩa	7
4 Xem xét chung	9
5 Độc tính toàn thân cấp tính	15
6 Độc tính toàn thân tiếp xúc lặp lại.....	20
Phụ lục A (tham khảo) Các cách đưa mẫu thử vào cơ thể	25
Phụ lục B (tham khảo) Thể tích liều.....	28
Phụ lục C (tham khảo) Quan sát dấu hiệu lâm sàng thông thường	29
Phụ lục D (tham khảo) Dự kiến các phép đo huyết học, hoá học lâm sàng và phân tích nước tiểu ..	30
Phụ lục E (tham khảo) Dự kiến danh mục các cơ quan cho đánh giá mô bệnh học	32
Phụ lục F (tham khảo) Thông tin về chất gây sốt do vật liệu	34
Thư mục tài liệu tham khảo	36

TCVN 7391-11 : 2007

Lời nói đầu

TCVN 7391-11 : 2007 hoàn toàn tương đương với ISO 10993-11 : 2006.

TCVN 7391-11 : 2007 do Tiểu ban Kỹ thuật Tiêu chuẩn TCVN/TC210/SC2 "*Trang thiết bị y tế*" biên soạn, trên cơ sở dự thảo đề nghị của Viện Trang thiết bị và Công trình y tế – Bộ Y tế, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ TCVN 7391 (ISO 10993) với tên chung *Đánh giá sinh học đối với trang thiết bị y tế*, gồm các tiêu chuẩn sau:

- TCVN 7391-1:2004 (ISO 10993-1:2003) Phần 1: Đánh giá và thử nghiệm
- TCVN 7391-2:2005 (ISO 10993-2:1992) Phần 2: Yêu cầu sử dụng động vật
- TCVN 7391-3:2005 (ISO 10993-3:2003) Phần 3: Phép thử độc tính di truyền, khả năng gây ung thư và độc tính sinh sản
- TCVN 7391-4:2005 (ISO 10993-4:2002) Phần 4: Chọn phép thử tương tác với máu
- TCVN 7391-5:2005 (ISO 10993-5:1999) Phần 5: Phép thử độc tính tế bào *in vitro*
- TCVN 7391-6:2007 (ISO 10993-6:1994) Phần 6: Phép thử hiệu ứng tại chỗ sau cấy ghép
- TCVN 7391-7:2004 (ISO 10993-7:1995) Phần 7: Dư lượng sau tiệt trùng bằng etylen oxit
- TCVN 7391-11:2007 (ISO 10993-11:2006) Phần 11: Phép thử độc tính toàn thân
- TCVN 7391-12:2007 (ISO 10993-12:2002) Phần 12: Chuẩn bị mẫu và vật liệu chuẩn

Bộ ISO 10993 với tên chung *Biological evaluation of devices*, còn có các phần sau:

- Part 9: Framework for identification and quantification of quantification of potential degradation products
- Part 10: Tests for irritation and delayed –type hypersensitivity
- Part 13: Identification and quantification of degradation products from polymeric medical devices
- Part 14: Identification and quantification of degradation products from ceramics
- Part 15: Identification and quantification of degradation products from metals and alloys
- Part 16: Toxicokinetic study design for degradation products and leachables
- Part 17: Establishment of allowable limits for leachable substances
- Part 18: Chemical characterization of materials
- Part 19: Physico-chemical, morphological and topographical characterization
- Part 20: Principles and methods for immunotoxicology testing of medical devices

Lời giới thiệu

Độc tính toàn thân là một tác động có hại tiềm ẩn khi sử dụng trang thiết bị y tế. Các tác động được khái quát hoá cũng như các tác động đối với cơ quan và hệ cơ quan có thể xảy ra do sự hấp thụ, phân bố và trao đổi chất của các chất tiết ra từ trang thiết bị hoặc các vật liệu của thiết bị đến các bộ phận của cơ thể mà không có tiếp xúc trực tiếp. Tiêu chuẩn này đánh giá độc tính toàn thân đã được khái quát hoá, không phải là độc tính toàn thân nhằm vào hệ cơ quan hoặc cơ quan đích cụ thể nào, mặc dù các tác động này có thể do sự hấp thụ toàn thân và phân bố các chất độc vào cơ thể.

Do tính đa dạng của các trang thiết bị y tế, vật liệu làm ra chúng cũng như mục đích sử dụng của chúng, nên tiêu chuẩn này không quá đi vào chi tiết. Mặc dù tiêu chuẩn này đề cập đến các vấn đề phương pháp luận cụ thể đặc trưng được xem xét khi thiết lập các phép thử độc tính toàn thân, nhưng thiết lập nghiên cứu phù hợp phải thích ứng với bản chất của vật liệu làm ra trang thiết bị và ứng dụng lâm sàng đã dự định của nó.

Các yếu tố khác của tiêu chuẩn này về bản chất là đề ra quy tắc, bao gồm các khía cạnh phù hợp với kỹ thuật phòng thí nghiệm chuẩn và các yếu tố cần đề cập đến khi báo cáo.

Trong khi một số phép thử độc tính toàn thân (ví dụ các nghiên cứu cấy ghép lâu dài hoặc độc cho da) có thể được thiết kế để nghiên cứu các tác động toàn thân cũng như các tác động tại chỗ, khả năng gây ung thư hoặc độc tính sinh sản thì tiêu chuẩn này chỉ tập trung vào các khía cạnh của nghiên cứu được dự định đề cập đến các tác động toàn thân. Các nghiên cứu đề cập đến các tác động cuối cùng gây độc khác được trình bày trong TCVN 7391-3 (ISO 10993-3), TCVN 7391-6 (ISO 10993-6), ISO 10993-10 và ISO/TS 10993-20.

Khả năng gây sốt (xem Phụ lục F) là một tác động toàn thân bổ sung mà trước đây đã được đưa vào tiêu chuẩn này. Tuy nhiên, những nỗ lực đang được thực hiện để xem xét khả năng gây sốt theo một tiêu chuẩn riêng biệt và sâu hơn.

Cuối cùng, nghiên cứu độc học là một khoa học không hoàn hảo. Kết quả của bất kỳ một phép thử nào đều không phải là cơ sở duy nhất để xác định liệu một thiết bị có an toàn với mục đích sử dụng của nó hay không.

Đánh giá sinh học đối với trang thiết bị y tế –

Phần 11: Phép thử độc tính toàn thân

Biological evaluation of medical devices –

Part 11: Tests for systemic toxicity

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các yêu cầu và đưa ra hướng dẫn quy trình đánh giá khả năng gây ra các phản ứng bất lợi toàn thân đối với vật liệu trang thiết bị y tế.

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là cần thiết cho việc áp dụng tiêu chuẩn. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm ban hành thì áp dụng bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm ban hành thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các bản sửa đổi (nếu có).

TCVN 7391-1 (ISO 10993-1) Đánh giá sinh học đối với trang thiết bị y tế – Phần 1: Đánh giá và thử nghiệm.

TCVN 7391-2 (ISO 10993-2) Đánh giá sinh học đối với trang thiết bị y tế – Phần 2: Yêu cầu sử dụng động vật.

TCVN 7391-12 (ISO 10993-12) Đánh giá sinh học đối với trang thiết bị y tế – Phần 12: Chuẩn bị mẫu và vật liệu chuẩn.

3 Thuật ngữ, định nghĩa

Tiêu chuẩn này áp dụng các thuật ngữ và định nghĩa trong TCVN 7391-1 (ISO 10993-1) và các định nghĩa sau.

3.1

Liều (dose)

Liều lượng (dosage)

Số lượng mẫu thử được dùng (ví dụ khối lượng, thể tích) biểu thị trên đơn vị khối lượng cơ thể hoặc diện tích bề mặt.

3.2

Liều tác động (dose-effect)

Tương quan giữa liều lượng và khả năng tác động sinh học được xác định ở một cá thể hoặc ở một mẫu quần thể.

3.3

Liều đáp ứng (dose-response)

Quan hệ của liều lượng với một phổ tác động liên quan đến việc tiếp xúc.

CHÚ THÍCH Có hai dạng quan hệ liều đáp ứng. Dạng thứ nhất là phản ứng của một cá thể với một dải liều lượng. Dạng thứ hai là sự phân bố phản ứng của một quần thể các cá thể với một dải liều lượng.

3.4

Chất được tiết ra (leachable substance)

Hoá chất giải phóng từ trang thiết bị hoặc vật liệu do tác động của nước hoặc các chất lỏng khác liên quan đến việc sử dụng thiết bị.

CHÚ THÍCH Các ví dụ về chất được tiết ra là các phụ gia, dư lượng chất diệt trùng, dư lượng quá trình xử lý, sản phẩm phân huỷ, dung môi, chất làm dẻo, chất bôi trơn, chất xúc tác, chất ổn định, chất chống ôxi hoá, chất tạo màu, chất nhồi và các đơn thể.

3.5

Phép thử giới hạn (limit test)

Sử dụng một nhóm đơn xử lý với một liều lượng thích hợp của mẫu thử để chỉ ra có hoặc không có nguy cơ độc hại.

3.6

Độc tính toàn thân (systemic toxicity)

Độ độc không bị giới hạn với các tác động bất lợi tại vị trí tiếp xúc giữa cơ thể và trang thiết bị.

CHÚ THÍCH Độc tính toàn thân phụ thuộc vào sự hấp thụ và phân bố một chất độc từ điểm đầu vào của nó đến một vị trí xa tại đó xảy ra các tác động độc hại.

3.7

Độc tính toàn thân cấp tính (acute systemic toxicity)

Các tác động bất lợi xảy ra tại bất kỳ lần nào sau khi tiếp xúc một lần, nhiều lần hoặc liên tục với một mẫu thử trong vòng 24 giờ.

3.8**Độc tính toàn thân bán cấp tính** (subacute systemic toxicity)

Các tác động bất lợi xảy ra sau khi tiếp xúc nhiều lần hoặc liên tục từ 24 giờ đến 28 ngày.

CHÚ THÍCH Vì thuật ngữ này không đúng về mặt ngữ nghĩa, nên các tác động bất lợi xảy ra trong một giai đoạn thời gian quy định cũng có thể được mô tả như một nghiên cứu độc tính toàn thân do tiếp xúc lặp lại ngắn hạn. Chọn khoảng thời gian từ 14 ngày đến 28 ngày là phù hợp với hầu hết các hướng dẫn quy định quốc tế và được xem là thích hợp. Các nghiên cứu tĩnh mạch bán cấp tính thường được xác định như các giai đoạn xử lý lớn hơn 24 giờ nhưng nhỏ hơn 14 ngày.

3.9**Độc tính toàn thân bán mãn tính** (subchronic systemic toxicity)

Các tác động bất lợi xảy ra sau khi đưa vào cơ thể lặp lại hoặc liên tục một mẫu thử trong một phần quãng đời.

CHÚ THÍCH Các nghiên cứu độc tính toàn thân bán mãn tính thường là 90 ngày ở loài gặm nhấm nhưng không vượt quá 10 % tuổi thọ của các loài khác. Các nghiên cứu tĩnh mạch bán mãn tính thường được xác định như các giai đoạn xử lý từ 14 ngày đến 28 ngày.

3.10**Độc tính toàn thân mãn tính** (chronic systemic toxicity)

Các tác động bất lợi xảy ra sau khi đưa vào cơ thể lặp lại hoặc liên tục một mẫu thử trong phần lớn quãng đời.

CHÚ THÍCH Các nghiên cứu độc tính toàn thân mãn tính thường từ 6 tháng đến 12 tháng.

3.11**Mẫu thử** (test sample)

Vật liệu, trang thiết bị, bộ phận của trang thiết bị, thành phần, chất chiết hoặc phần chiết từ trang thiết bị dùng để thử nghiệm hoặc đánh giá sinh học hoặc hoá học.

4 Xem xét chung**4.1 Quy định chung**

Chọn các phép thử thích hợp cho một trang thiết bị phải tuân theo TCVN 7391-1 (ISO 10993-1), cân nhắc kỹ cách thức và thời gian tiếp xúc.

Thử nghiệm phải được tiến hành trên sản phẩm thành phẩm và/hoặc các mẫu thử thành phần đại diện của sản phẩm thành phẩm và/hoặc vật liệu. Các mẫu thử phải phản ánh được điều kiện trong đó trang thiết bị này thường được chế tạo và xử lý. Nếu cần độ lệch thì phải ghi lại độ lệch trong báo cáo thử cùng với lập luận giải thích. Do mục đích để xác định nguy cơ nên có thể phải tăng cường tiếp xúc với các mẫu thử.

TCVN 7391-11 : 2007

Các đặc điểm lý hoá của mẫu thử, ví dụ độ pH, độ ổn định, độ nhớt, độ thẩm thấu, dung tích đệm, độ hoà tan và độ vô trùng, là các nhân tố cần xem xét khi thiết kế nghiên cứu.

Khi xem xét các phép thử trên động vật, để thoả mãn các điều khoản của TCVN 7391-2 (ISO 10993-2), phải xác định và tiến hành tất cả các lựa chọn thay thế, giảm lược hoặc tinh lọc hợp lý và có sẵn trong thực tế. Đối với thử nghiệm độ độc cấp tính *in vivo* thì dữ liệu độ độc tế bào *in vitro* là có ích để ước lượng liều ban đầu^[9].

4.2 Chọn loài động vật

Không có tiêu chí tuyệt đối nào để chọn một loài động vật cụ thể cho thử nghiệm độc tính toàn thân của các trang thiết bị y tế. Tuy nhiên, loài sử dụng phải được xác minh về mặt khoa học và tuân theo các điều khoản của TCVN 7391-2 (ISO 10993-2). Đối với các nghiên cứu về đường miệng cấp tính, tĩnh mạch, da và hít vào của trang thiết bị y tế, thì chuột nhắt và chuột cống trắng có thể là ưu tiên, ngoài ra thỏ có thể được chọn cho các nghiên cứu về da và cấy dưới da. Các loài không thuộc bộ gặm nhấm cần được xem xét khi thử nghiệm và ghi nhận rằng một số nhân tố có thể cho biết số lượng hoặc sự lựa chọn loài để nghiên cứu.

Thường ưu tiên sử dụng chỉ một loài hoặc một chủng động vật khi tiến hành một loạt các nghiên cứu độc tính toàn thân trong các khoảng thời gian khác nhau, ví dụ như độc tính toàn thân cấp tính, bán cấp tính, bán mãn tính và/hoặc mãn tính. Điều này kiểm soát được thay đổi giữa các loài và các chủng và tạo điều kiện thuận lợi cho đánh giá mà chỉ liên quan đến khoảng thời gian nghiên cứu. Nếu sử dụng nhiều loài hoặc nhiều chủng thì phải lập văn bản giải thích sự lựa chọn đó.

4.3 Tình trạng động vật

Nhìn chung, nên sử dụng các động vật trưởng thành, nòi khỏe mạnh biết rõ nguồn gốc và đã xác định được tình trạng sức khoẻ vi sinh học. Khi bắt đầu nghiên cứu, thay đổi về khối lượng của động vật sử dụng trong phạm vi một giới không vượt quá $\pm 20\%$ khối lượng trung bình. Khi sử dụng con cái, chúng phải chưa sinh đẻ và không mang thai. Việc lựa chọn động vật phải được giải thích rõ ràng.

4.4 Chăm sóc và chăn nuôi động vật

Chăm sóc và chăn nuôi động vật phải phù hợp với hướng dẫn chăn nuôi động vật đã chấp nhận. Động vật phải được làm cho thích nghi với các điều kiện phòng thí nghiệm trước khi xử lý và khoảng thời gian đã định. Kiểm soát các điều kiện môi trường và kỹ thuật chăm sóc động vật thích hợp cần thiết để có được các kết quả có ý nghĩa. Thành phần dinh dưỡng và vật liệu chuồng trại được biết sẽ gây ra hoặc có ảnh hưởng độc hại phải được xác định chính xác và phải xem xét đến ảnh hưởng tiềm tàng của chúng đến kết quả thử.

4.5 Cỡ và số lượng nhóm

4.5.1 Cỡ nhóm

Độ chính xác của phép thử độc tính toàn thân phụ thuộc chủ yếu vào số lượng động vật đã sử dụng trên một mức liều. Độ chính xác cần thiết và số lượng động vật trên một nhóm liều cần thiết phụ thuộc vào mục đích nghiên cứu.

Cỡ nhóm tăng hợp lý theo thời gian xử lý, như vậy tại cuối kỳ nghiên cứu vẫn có đủ động vật trong mỗi nhóm để đánh giá sinh học được kỹ lưỡng. Tuy nhiên, số lượng động vật tối thiểu được sử dụng phù hợp với việc nhận được các kết quả có ý nghĩa [xem TCVN 7391-2 (ISO 10993-2)]. Cỡ nhóm tối thiểu được kiến nghị, các cách xem xét được nêu trong Bảng 1.

Bảng 1 – Cỡ nhóm tối thiểu được kiến nghị

Loại nghiên cứu	Loài gặm nhấm, con	Không phải loài gặm nhấm, con
Cấp tính ^a	5	3
Bán cấp tính	10 (5 trên một giới) ^a	6 (3 trên một giới) ^a
Bán mãn tính	20 (10 trên một giới) ^a	8 (4 trên một giới) ^a
Mãn tính	40 (20 trên một giới) ^{b, c}	^c

^a Thử nghiệm chỉ trong một giới có thể được chấp nhận. Khi một trang thiết bị dự định sử dụng chỉ trong một giới thì thử nghiệm phải được tiến hành trên giới đó.

^b Khuyến nghị để cập đến một thử nghiệm nhóm mức liều. Nơi nào có các nhóm liều tăng cường bổ sung thì cỡ nhóm khuyến nghị có thể giảm xuống 10 con trên một giới.

^c Cần khuyến nghị từ các chuyên gia tư vấn thống kê về cỡ nhóm nghiên cứu mãn tính. Số lượng con vật thử nghiệm phải dựa trên yêu cầu tối thiểu cần để cung cấp đúng cách dữ liệu có ý nghĩa. Phải giữ lại đủ số động vật khi kết thúc nghiên cứu để đảm bảo đánh giá thống kê các kết quả.

4.5.2 Số lượng nhóm

Một nhóm liều xử lý ở một liều lượng mẫu thử thích hợp trong một loài có thể chỉ ra sự có hoặc không có một nguy cơ gây độc (ví dụ phép thử giới hạn). Tuy nhiên, các nghiên cứu liều đáp ứng hoặc nhiều liều khác cần nhiều nhóm để chỉ ra phản ứng độc.

Số lượng nhóm có thể tăng khi cần tăng liều một cách có chủ định. Khi cần tăng liều, xem xét các ví dụ sau:

- tăng diện tích bề mặt lâm sàng tiếp xúc;
- tăng khoảng thời gian tiếp xúc;
- tăng phần có thể chiết hoặc các hoá chất riêng biệt;
- tăng số lần đưa mẫu thử vào cơ thể trong vòng 24 giờ.

Các phương pháp khác để tăng liều có thể được chấp nhận. Phương pháp sử dụng phải được giải thích.

4.5.3 Đối chứng khi xử lý

Phụ thuộc vào mục tiêu của nghiên cứu, bản chất của vật thử và cách tiếp xúc, các đối chứng âm tính, đối chứng phương tiện và/hoặc đối chứng xử lý giả phải được đưa vào tất cả các nghiên cứu độc tính toàn thân. Các đối chứng này phải tiến hành theo quy trình chuẩn bị và xử lý mẫu thử.

4.6 Cách tiếp xúc

Trang thiết bị y tế hoặc các chất được tiết ra từ chúng có thể đi vào cơ thể qua nhiều cách tiếp xúc. Cách tiếp xúc thử phải có liên quan mật thiết về mặt lâm sàng với việc sử dụng trang thiết bị, nếu có thể. Nếu có cách thay thế thì phải giải thích. Các ví dụ về cách đưa mẫu thử vào cơ thể có thể tìm thấy trong Phụ lục A.

4.7 Chuẩn bị mẫu

Hướng dẫn chuẩn bị và ổn định mẫu theo TCVN 7391-12 (ISO 10993-12).

4.8 Lấy liệu

4.8.1 Đưa mẫu thử vào cơ thể

Các quy trình phải được thiết kế để tránh các thay đổi sinh lý hoặc các vấn đề sử dụng động vật không trực tiếp liên quan đến độ độc của vật liệu thử. Nếu không thể dùng một liều lượng hàng ngày đủ thể tích hoặc nồng độ, thì liều có thể được dùng theo các phần nhỏ hơn trong một giai đoạn không vượt quá 24 giờ.

Các mẫu thử phải được chuyển giao ở một nhiệt độ có thể chấp nhận được về sinh lý. Nhìn chung, nhiệt độ phòng hoặc nhiệt độ cơ thể là một thông lệ chung. Các thay đổi phải được giải thích.

Tá chất được đưa vào cơ thể qua đường ngoài đường ruột phải tương thích sinh lý. Khi cần phải sử dụng việc lọc mẫu để loại các hạt rời ghi vào biên bản.

Việc nuôi giữ động vật trong các nghiên cứu độc tính toàn thân tiếp xúc lặp lại thường giới hạn chỉ từ 4 giờ đến 6 giờ một ngày. Bản chất và khoảng thời gian nuôi giữ phải tối thiểu cần để đáp ứng các mục tiêu khoa học và không tổn hại việc sử dụng động vật thử. Các thay đổi phải được giải thích.

Khi cần phải nuôi giữ thì động vật phải được làm thích nghi với thiết bị nuôi giữ trước khi đưa mẫu thử vào cơ thể.

4.8.2 Thể tích liều

Hướng dẫn về thể tích liều được tóm tắt trong Phụ lục B. Khi sử dụng nhiều nhóm liều, sự thay đổi thể tích thử có thể được giảm thiểu bằng cách điều chỉnh nồng độ để đảm bảo một thể tích không đổi ở tất cả các liều. Sử dụng các thể tích liều lớn hơn các thể tích nêu trong Phụ lục B phải được giải thích.

Phải tránh đưa mẫu thử vào cơ thể với thể tích lớn qua đường miệng vì chúng có thể choán hết dung tích của dạ dày và chuyển ngay vào ruột nhỏ. Thể tích lớn cũng có thể chảy ngược dòng vào thực quản.

Đưa mẫu thử vào trong cơ cũng cần giới hạn thể tích, điều này phụ thuộc vào cỡ của động vật và vị trí cơ. Thể tích đưa mẫu thử vào trong cơ riêng cho từng loài được trình bày trong Phụ lục B.

Thể tích tiêm tĩnh mạch được thực hiện trong thời gian ngắn khoảng 1 phút. Tốc độ tiêm là yếu tố quan trọng, với loài gặm nhấm, tốc độ này không vượt quá 2 ml/phút.

Để đưa mẫu thử vào cơ thể với thể tích lớn có thể phải tiêm hoặc truyền tĩnh mạch chậm hoặc có thời gian. Không kể đến tốc độ đã tính, tốc độ khi truyền dịch lỏng phải dừng lại hoặc giảm đi nếu động vật biểu hiện thay đổi đáng kể trong điều kiện lâm sàng.

Tốc độ tiêm tĩnh mạch chậm có thể cần cho các mẫu thử bị hạn chế bởi độ hoà tan hoặc độ gây kích thích.

Có thể sử dụng truyền liên tục nếu có chỉ định lâm sàng. Thể tích và tốc độ truyền phụ thuộc vào chất được cho và xem xét kỹ thuật trị liệu bằng dịch lỏng chuẩn. Như một hướng dẫn, thể tích truyền một lần sẽ nhỏ hơn 10 % thể tích máu tuần hoàn trong 2 giờ. Hiệu quả tối thiểu của việc nuôi giữ động vật thử là một nhân tố chính phải xem xét khi truyền kéo dài.

Khi đưa mẫu thử vào dưới da, tham khảo Phụ lục B. Tốc độ và phạm vi hấp thụ phụ thuộc vào công thức mẫu thử.

4.8.3 Tần suất liều

Tần suất liều dựa trên mối tương quan lâm sàng. Các quy trình tăng cường phải được mô tả và giải thích rõ ràng.

Trong các nghiên cứu độc tính toàn thân cấp tính, động vật phải được tiếp xúc với mẫu thử ở một liều đơn hoặc với các phần của liều đó trong vòng 24 giờ.

Trong các nghiên cứu tiếp xúc lặp lại, động vật phải được cho liều với mẫu thử hàng ngày, bảy ngày mỗi tuần trong suốt thời gian thử. Các chế độ cho liều khác có thể được chấp nhận nhưng phải giải thích.

4.9 Khối lượng cơ thể và mức tiêu thụ thức ăn/nước

Thay đổi khối lượng cơ thể và thay đổi mức tiêu thụ nước và thức ăn có thể là do các tác động của một vật thử. Do vậy, khối lượng riêng của các con vật được xác định ngay trước khi mẫu thử được đưa vào cơ thể (ví dụ thường trong vòng 24 giờ cho một lần lấy liều đơn hoặc lấy liều cấp tính, và không quá 7 ngày cho các nghiên cứu tiếp xúc lặp lại) tại các khoảng thời gian đều đặn trong suốt quá trình nghiên cứu và lúc kết thúc nghiên cứu. Khi lấy liều theo khối lượng cơ thể, phải sử dụng khối lượng cơ thể mới nhất.

Đo mức tiêu thụ nước và thức ăn phải được xem xét trong các nghiên cứu tiếp xúc lặp lại dài hạn.

4.10 Quan sát lâm sàng

Các quan sát lâm sàng phải được tiến hành bởi các nhân viên được đào tạo để đảm bảo báo cáo nhất quán. Tần suất và khoảng thời gian quan sát phải được xác định theo bản chất và độ nghiêm trọng của phản ứng gây độc, tốc độ khởi điểm và thời gian hồi phục. Tần suất quan sát tăng có thể cần thiết trong giai đoạn sớm của một nghiên cứu, đặc biệt trong các nghiên cứu cấp tính. Thời gian xuất hiện và biến mất dấu hiệu độc thì khoảng thời gian và thời điểm chết là quan trọng, đặc biệt nếu có khuynh hướng biểu hiện dấu hiệu lâm sàng bất lợi hoặc gây chết từ từ. Nên áp dụng giết nhân đạo để tránh sự chịu đựng không cần thiết. Các quan sát lâm sàng nói chung phải xem xét đến giai đoạn đỉnh điểm của các tác động báo trước sau khi cho liều.

Các quan sát được ghi lại một cách hệ thống như chúng được thực hiện. Các ghi chép được lưu lại cho mỗi con vật.

Các quan sát bên chuồng về khả năng sống hoặc các dấu hiệu lâm sàng phải được ghi lại ít nhất một lần mỗi ngày, sử dụng các công cụ miêu tả các tác động lâm sàng phòng thí nghiệm thông thường (xem Phụ lục C).

Các quan sát bệnh tật và tử vong phải được ghi lại ít nhất 2 lần mỗi ngày trong các nghiên cứu lặp lại dài hạn. Sàng lọc rộng hơn đối với các dấu hiệu lâm sàng bất lợi có thể cần xem xét ít nhất trên cơ sở hàng tuần cho các nghiên cứu tiếp xúc lặp lại dài hạn.

4.11 Bệnh học lâm sàng

Phân tích huyết học và hoá học lâm sàng được tiến hành để nghiên cứu các tác động độc trong mô, cơ quan và các hệ thống khác. Khi được chỉ dẫn, các phân tích này phải được tiến hành trên các mẫu máu nhận được từ các động vật nghiên cứu tiếp xúc lặp lại ít nhất ngay trước khi, hoặc như một phần của thủ tục tiến hành giết động vật đã được lên kế hoạch. Trong một số trường hợp cần cho động vật nhịn ăn uống trước khi lấy mẫu máu. Khi có chỉ dẫn khoa học, phân tích nước tiểu có thể được tiến hành trong tuần cuối cùng của một nghiên cứu tiếp xúc lặp lại dài hạn bằng cách lấy thể tích nước tiểu theo thời gian (ví dụ 16 giờ đến 24 giờ).

Các thông số để đánh giá huyết học, hoá học lâm sàng và phân tích nước tiểu được liệt kê trong Phụ lục D.

4.12 Bệnh học giải phẫu

Khi được chỉ dẫn lâm sàng, phải xem xét các đánh giá tổng quát bệnh học cho các nghiên cứu độc tính toàn thân cấp tính.

Tất cả động vật trong các nghiên cứu tiếp xúc lặp lại phải được mổ toàn bộ và chi tiết, bao gồm kiểm tra cẩn thận bề mặt bên ngoài cơ thể, tất cả các lỗ miệng, khoang sọ, khoang ngực và khoang bụng cũng như các thành phần bên trong của chúng. Các cơ quan đã chọn để cân phải được cắt khỏi các mô liên kết và khối lượng ướt được tính càng sớm càng tốt để tránh bị khô.

Phụ lục E gợi ý các mô cần được cân và bảo quản trong môi trường cố định thích hợp để kiểm tra mô bệnh học.

Tóm tắt các quan sát tối thiểu cho mỗi loại nghiên cứu nêu trong Bảng 2.

Bảng 2 – Tóm tắt các quan sát

Quan sát	Cấp tính	Bán cấp tính	Bán mãn tính/mãn tính ^a
Thay đổi khối lượng cơ thể	+	+	+
Các quan sát lâm sàng	+	+	+
Bệnh học lâm sàng	b	a, b	+
Bệnh học tổng quát	b	+	+
Khối lượng cơ quan	b	+	+
Mô bệnh học	b	a, b	+

^a Thử nghiệm độc tính toàn thân mãn tính nhìn chung là kéo dài thời gian của thử nghiệm bán mãn tính, được giải thích bằng giai đoạn tiếp xúc với con người. Nhiều thông số tương tự được ghi lại và báo cáo. Cỡ nhóm có thể tăng, bao gồm cả các nhóm vệ tinh được tạo ra cho một số hoặc tất cả các quan sát này.

^b Phải xem xét các phép đo này khi có chỉ định lâm sàng hoặc nếu thử nghiệm tiếp xúc lâu hơn không lường trước. Danh sách phân tích máu và mô/cơ quan gợi ý được liệt kê trong Phụ lục D và E.

4.13 Thiết kế nghiên cứu

Các thiết kế nghiên cứu được liệt kê trong các phần tiếp theo trong tiêu chuẩn này. Khuyến cáo việc tham vấn các chuyên gia trong thiết kế nghiên cứu.

4.14 Chất lượng điều tra nghiên cứu

Thực hành thực nghiệm tốt giải quyết việc tổ chức, xử lý và các điều kiện trong đó các nghiên cứu phòng thí nghiệm được lập kế hoạch, thực hiện, theo dõi, ghi chép và báo cáo. Các thực hành này được dự định để nâng cao chất lượng và giá trị của dữ liệu thử. Chúng cũng hỗ trợ nỗ lực hài hoà toàn cầu bằng cách tạo thuận lợi cho các giác thư thương mại giữa các quốc gia. Các nghiên cứu độc tính toàn thân phải được tiến hành theo các nguyên tắc như vậy.

5 Độc tính toàn thân cấp tính

5.1 Quy định chung

Độc tính toàn thân cấp tính cung cấp thông tin chung về các nguy cơ đối với sức khỏe có thể nảy sinh do tiếp xúc cấp tính bằng phác đồ lâm sàng đã định. Một nghiên cứu độ độc cấp tính có thể là bước khởi đầu để thiết lập một cách thức lấy liều trong các nghiên cứu bán cấp tính/bán mãn tính và các

ngiên cứu khác và có thể cung cấp thông tin về kiểu hoạt động gây độc của một chất bằng cách tiếp xúc lâm sàng đã định. Tiếp sau việc đưa mẫu thử vào cơ thể trong thử nghiệm độc tính toàn thân cấp tính, cần quan sát các tác động (ví dụ dấu hiệu lâm sàng bất lợi, thay đổi khối lượng cơ thể, các phát hiện mô bệnh học vĩ mô) và những cái chết. Con vật cho thấy các dấu hiệu kiệt sức, đau dai dẳng và nghiêm trọng cần phải gây chết nhân đạo ngay lập tức. Các vật liệu bị bào mòn hoặc gây kích thích được biết là gây ra đau và làm kiệt sức đáng kể phải được báo cáo và do vậy không cần thử .

CHÚ THÍCH ICCVAM và ECVAM hiện đang được đánh giá nên các phép thử độ độc tế bào *in vitro* là một phép thay thế cho thử nghiệm độ độc cấp tính.

5.2 Thiết kế nghiên cứu

5.2.1 Chuẩn bị

Động vật trưởng thành và khoẻ mạnh được làm thích nghi với các điều kiện phòng thí nghiệm ít nhất 5 ngày trước khi bắt đầu thử. Thời gian ngắn hơn phải được giải thích. Động vật sau đó được lấy ngẫu nhiên và chia thành các nhóm xử lý.

5.2.2 Động vật thực nghiệm

5.2.2.1 Chọn loài

Thông thường sử dụng một loài gặm nhấm (chuột nhắt, chuột cống trắng). Các đặc điểm mô hình (tuổi, khối lượng...) như được mô tả trong 4.2 và 4.3. Nếu không sử dụng các loài gặm nhấm thì phải giải thích khoa học việc sử dụng này.

5.2.2.2 Số lượng và giới tính

Số lượng và loại nhóm, số lượng con vật trong nhóm và giới tính được mô tả trong 4.5.

5.2.2.3 Điều kiện nuôi dưỡng

Nhiệt độ và độ ẩm tương đối trong các buồng nuôi động vật thực nghiệm phải phù hợp với loài, ví dụ $(22 \pm 3) ^\circ\text{C}$ và độ ẩm tương đối 30 % đến 70 % đối với chuột nhắt. Thông thường tần suất chiếu sáng nhân tạo là 12 giờ chiếu sáng và 12 giờ bóng tối.

Đối với việc cho ăn, có thể sử dụng các thức ăn phòng thí nghiệm được tiêu chuẩn có bán sẵn, cấp nước uống không hạn chế. Động vật được nuôi trong chuồng theo nhóm giới tính hoặc nuôi riêng biệt; khi nuôi theo nhóm thì không được vượt quá 5 con trong một chuồng.

5.2.3 Điều kiện thử nghiệm

5.2.3.1 Các mức liều

Các mức liều phải như mô tả trong 4.8.

Động vật trong nhóm đối chứng phải được xử lý như trong nhóm thử chỉ trừ không cho chúng các liều của mẫu thử.

5.2.3.2 Quy trình

Động vật nhận được một liều đơn của mẫu thử, hoặc khi cần, nhiều liều trong giai đoạn 24 giờ. Các dấu hiệu độc phải được ghi lại như quan sát thấy, bao gồm thời điểm bắt đầu, mức độ và khoảng thời gian.

Quan sát đều đặn động vật là cần thiết để đảm bảo rằng động vật không bị thiếu hụt khi nghiên cứu do chúng ăn thịt đồng loại, tự phân huỷ của mô hoặc do sắp xếp sai. Vào cuối nghiên cứu tất cả động vật sống sót phải được gây chết nhân đạo. Bất kỳ động vật nào hấp hối phải bỏ đi và gây chết nhân đạo khi thấy các hành vi như vậy.

Kế hoạch quan sát và gây chết nhân đạo đã áp dụng nên ngăn ngừa khả năng động vật bị chết do hệ quả trực tiếp của độ độc của mẫu thử.

5.2.4 Khối lượng cơ thể

Số đo khối lượng cơ thể phải lấy ngay trước khi cho liều, hàng ngày trong 3 ngày đầu sau khi cho liều, hàng tuần sau khi cho liều lần đầu tiên nếu được chỉ định theo thời gian nghiên cứu và cuối thời điểm nghiên cứu.

5.2.5 Quan sát lâm sàng

Giai đoạn quan sát cho một nghiên cứu độc tính toàn thân cấp tính ít nhất là 3 ngày hoặc dài hơn khi thấy phù hợp. Tính đặc hiệu về tần suất và loại quan sát được mô tả trong 4.10 và Phụ lục C. Trong mọi trường hợp, quan sát phải tiến hành ở một tần suất và hành động phù hợp, để giảm thiểu sự mất mát của động vật khỏi nghiên cứu, ví dụ mổ xác hoặc đông lạnh những con vật đã chết và cách ly hoặc gây chết những con vật yếu hoặc đang hấp hối. Quan sát bên chuồng phải bao gồm, nhưng không giới hạn, với những thay đổi ở da, lông, mắt và màng nhày, hô hấp, tuần hoàn tự chủ và hệ thần kinh trung ương, hoạt động sinh dưỡng và dạng hành vi bằng các công cụ mô tả trong Phụ lục C.

5.2.6 Bệnh học

5.2.6.1 Bệnh học lâm sàng

Phải xem xét các đánh giá bệnh học lâm sàng khi có chỉ định lâm sàng. Phải tiến hành các kiểm tra sau đây:

- a) Huyết học, như mô tả trong Phụ lục D, phải xem xét kiểm tra tại cuối giai đoạn thử.
- b) Xác định hoá sinh lâm sàng máu như liệt kê trong Phụ lục D, phải xem xét tại cuối giai đoạn thử. Các vùng thử được xem là thích hợp với các nghiên cứu tiếp xúc cấp tính là chức năng gan và thận. Hoá sinh lâm sàng bổ sung có thể được sử dụng khi cần thiết để mở rộng quan sát các tác động đã quan sát được.

Phân tích nước tiểu về cơ bản là không cần thiết, chỉ tiến hành khi có chỉ dẫn dựa trên độ độc có thể có hoặc quan sát được. Các thông số gợi ý được liệt kê trong Phụ lục D.

5.2.6.2 Bệnh học tổng quát

Phải xem xét các đánh giá bệnh học tổng quát khi có chỉ định lâm sàng. Đánh giá này phải bao gồm việc kiểm tra bề mặt ngoài của cơ thể, tất cả các lỗ miệng, khoang sọ, khoang ngực và khoang bụng cũng như các thành phần bên trong nó. Khi thấy thích hợp, cần xem xét để ghi lại khối lượng của não bộ, gan, thận, thượng thận và tinh hoàn. Các cơ quan này phải được cân ướt càng sớm càng tốt sau khi cắt để tránh bị khô và dẫn đến các giá trị thấp giả tạo.

5.2.6.3 Mô bệnh học

Mô bệnh học tổng thể thường không được tiến hành trên các cơ quan và mô từ các động vật trong nghiên cứu độc tính toàn thân cấp tính, trừ khi được chỉ dẫn cụ thể bởi các phát hiện mô toàn bộ tử thi duy nhất.

5.3 Tiêu chí đánh giá

5.3.1 Quy định chung

Phụ thuộc vào thiết kế thử nghiệm đã sử dụng, áp dụng các tiêu chí đánh giá sau đây:

a) Đối với thử nghiệm kiểu được điển

- Nếu trong giai đoạn quan sát của một phép thử độc tính toàn thân cấp tính, không một động vật nào xử lý với mẫu thử cho thấy hoạt tính sinh học cao hơn đáng kể so với động vật xử lý với được tá đối chứng thì mẫu đáp ứng yêu cầu của phép thử này.
- Sử dụng năm động vật, nếu hai hoặc nhiều hơn số con chết, hoặc nếu có hành vi rối loạn hoặc kiệt sức với hai hoặc nhiều hơn số con, hoặc nếu giảm khối lượng cơ thể hơn 10 % trong số ba hoặc nhiều hơn số con thì mẫu không đáp ứng yêu cầu của phép thử.
- Nếu bất kỳ con vật nào xử lý với mẫu cho thấy chỉ có các biểu hiện hoạt tính sinh học nhẹ và không nhiều hơn một con vật cho thấy các triệu chứng hoạt tính sinh học tổng thể hoặc chết thì lặp lại phép thử sử dụng các nhóm gồm mười con.
- Đối với phép thử lặp lại, nếu tất cả mười con vật xử lý với mẫu không thấy biểu hiện hoạt tính sinh học có ý nghĩa khoa học so với các con vật đối chứng trong giai đoạn quan sát thì mẫu đáp ứng yêu cầu của phép thử này.

b) Đối với các phép thử độc tính toàn thân cấp tính không theo được điển

Sự lựa chọn hiện tại để tiến hành đánh giá sử dụng các phương pháp có phạm vi rộng hơn bao gồm bệnh học lâm sàng và giải phẫu, có thể loại trừ sự cần thiết lặp lại phép thử. Tiếp xúc cấp tính có thể gồm đánh giá lại nếu có sự khác nhau không rõ rệt so với đối chứng hiện hành. Sự khác nhau phải được giải thích và nghiên cứu bổ sung thêm năm con vật nữa, nếu có thể áp dụng được.

5.3.2 Đánh giá kết quả

Các phát hiện của một nghiên cứu độc tính toàn thân cấp tính phải được đánh giá cùng với các phát hiện của các nghiên cứu trước, nếu có sẵn, và được xem xét về mặt tác động độc và các phát hiện mô tử thi toàn bộ, nếu quan sát được. Đánh giá bao gồm quan hệ giữa liều của chất thử, sự có hoặc không có cũng như sự xuất hiện và độ nghiêm trọng của các bất thường, bao gồm bất thường hành vi và lâm sàng, tổn thương toàn bộ, thay đổi khối lượng cơ thể, các tác động tử vong và bất kỳ các tác động chung hoặc riêng nào khác.

5.4 Báo cáo tổng kết

Báo cáo tổng kết cho nghiên cứu độc tính toàn thân cấp tính phải bao gồm các thông tin sau:

- a) Chất thử;
 - bản chất vật lý, độ tinh khiết và các đặc điểm hoá lý phù hợp;
 - dữ liệu nhận dạng khác.
- b) Tá dược (nếu thích hợp);
 - giải thích việc chọn tá dược khác với tá dược liệt kê trong TCVN 7391-12 (ISO 10993-12).
- c) Động vật thử
 - loài/chủng sử dụng;
 - số lượng, tuổi và giới tính của động vật;
 - nguồn bao gồm tình trạng vi sinh học (ví dụ được nuôi ngăn hoặc nuôi thông thường), điều kiện ở (nhiệt độ, độ ẩm, chỗ ngủ, chiếu sáng, chế độ ăn, ...);
 - khối lượng tại thời điểm bắt đầu phép thử.
- d) Điều kiện thử
 - cơ sở chọn liều;
 - chi tiết công thức/chuẩn bị chất thử; nồng độ đạt được; độ ổn định và đồng nhất, nếu phù hợp;
 - chi tiết của việc đưa chất thử vào cơ thể;
 - chuyển đổi từ nồng độ chất thử (ppm) sang liều thực (mg/kg BW), nếu có thể áp dụng;
 - chi tiết về chất lượng thức ăn, nước uống và chỗ ngủ.
- e) Kết quả
 - dữ liệu có thể được tóm tắt ở dạng bảng biểu, trình bày cho mỗi nhóm thử và nhóm đối chứng, số lượng con vật khi bắt đầu phép thử, số lượng con vật biểu hiện các dấu hiệu lâm sàng bất lợi và số lượng con vật có thay đổi khối lượng cơ thể;

TCVN 7391-11 : 2007

- khối lượng cơ thể/thay đổi khối lượng cơ thể;
 - tiêu thụ thức ăn và nước uống, nếu có thể áp dụng;
 - số liệu về phản ứng gây độc theo giới tính và mức độ liều, bao gồm các dấu hiệu về độ độc;
 - bản chất, độ nghiêm trọng và khoảng thời gian của các quan sát lâm sàng (có thuận nghịch hay không);
 - đánh giá hành vi thần kinh, nếu có thể áp dụng;
 - phép thử huyết học đã dùng và các kết quả với số liệu ranh giới liên quan, nếu có thể áp dụng;
 - phép thử hoá sinh lâm sàng đã dùng và các kết quả với số liệu ranh giới liên quan, nếu có thể áp dụng;
 - phép thử phân tích nước tiểu đã dùng và các kết quả với số liệu ranh giới liên quan, nếu có thể áp dụng;
 - số liệu về khối lượng cơ thể cuối cùng và khối lượng cơ quan, nếu có thể áp dụng;
 - các phát hiện khi mổ xác;
 - miêu tả chi tiết tất cả các phát hiện mô bệnh học, nếu có thể áp dụng;
 - đánh giá kết quả thống kê và thảo luận ý nghĩa sinh học của chúng.
- f) Thảo luận kết quả.
- g) Kết luận.
- h) Công bố đảm bảo chất lượng.

Nghiên cứu độc tính toàn thân cấp tính sẽ cung cấp thông tin về các tác động của tiếp xúc cấp tính với một chất thử. Phép ngoại suy kết quả nghiên cứu cho người có giá trị đến một mức độ hạn chế nhưng nó có thể cung cấp thông tin có ích về tiếp xúc có thể cho phép.

6 Độc tính toàn thân tiếp xúc lặp lại (Độc tính toàn thân bán cấp tính, bán mãn tính và mãn tính)

6.1 Quy định chung

Trong khi độ độc cấp tính đề cập đến các tác động bất lợi của các liều đơn (hoặc tiếp xúc hạn chế) thì một dạng phổ biến hơn của tiếp xúc con người với nhiều trang thiết bị y tế là dạng tiếp xúc lặp lại hoặc liên tục. Các tác động từ tiếp xúc lặp lại hoặc liên tục có thể xảy ra tiềm tàng do tích lũy các hoá chất trong mô hoặc bởi các cơ chế khác, và quan trọng là xác định bất kỳ khả năng xảy ra các trường hợp này thông qua thử nghiệm dài hạn (bán cấp tính, bán mãn tính, mãn tính).

Các phép thử độc tính toàn thân tiếp xúc lặp lại cung cấp thông tin về nguy cơ đối với sức khoẻ có thể xuất phát từ tiếp xúc kéo dài bằng cách lâm sàng đã định. Nó cũng có thể cung cấp thông tin về kiểu hoạt động độc của một chất bằng cách tiếp xúc lâm sàng đã định.

Các nghiên cứu độc tính toàn thân tiếp xúc lặp lại sẽ cung cấp thông tin chi tiết về tác động độc, cơ quan đích, khả năng thuận nghịch hoặc các tác động khác và có thể đóng vai trò làm cơ sở để ước tính độ an toàn. Các kết quả của nghiên cứu này cung cấp thông tin quan trọng được phản ánh trong phạm vi của hướng dẫn nghiên cứu bệnh học lâm sàng và giải phẫu.

Các nghiên cứu tiếp xúc lặp lại nhìn chung không cung cấp các tiêu chí thử nghiệm lại. Nhưng các cỡ nhóm được thiết kế để giúp cho việc đánh giá thống kê các quan sát đã ghi lại được (xem Bảng 1).

Do khoảng thời gian biến đổi đối với các nghiên cứu tiếp xúc lặp lại nên mẫu thử phải được chuẩn bị như đã yêu cầu để đảm bảo độ ổn định của chúng.

6.2 Thiết kế nghiên cứu

6.2.1 Chuẩn bị

Động vật trưởng thành và khoẻ mạnh được làm thích nghi với các điều kiện phòng thí nghiệm ít nhất 5 ngày trước khi thử. Động vật sau đó được lấy ngẫu nhiên và chia thành các nhóm xử lý.

6.2.2 Động vật thực nghiệm

6.2.2.1 Chọn loài

Thông thường sử dụng một loài gặm nhấm (chuột cống trắng, chuột nhắt). Các đặc điểm động vật thực nghiệm (tuổi, khối lượng, ...) như được mô tả trong 4.2 và 4.3. Nếu sử dụng các loài không thuộc bộ gặm nhấm thì phải giải thích khoa học việc sử dụng này.

6.2.2.2 Số lượng và giới tính

Số lượng và loại nhóm, số động vật trong một nhóm và giới tính được mô tả trong 4.5.1. Khi giải thích khoa học, phải xem xét việc sử dụng các động vật vệ tinh xử lý với mức liều cao cùng với các đối chứng vệ tinh cho một giai đoạn xác định trước, sau khi gây chết nhân đạo cuối cùng. Nhóm này với cả các đối chứng có thể được dùng để kiểm tra các tác động xử lý, bao gồm khả năng thuận nghịch, tồn tại dai dẳng hoặc các tác động độc bị trì hoãn. Đối với các nghiên cứu bán mãn tính thì các động vật vệ tinh phải được giữ lại trong vòng ít hơn 28 ngày.

6.2.2.3 Điều kiện nuôi dưỡng

Nhiệt độ và độ ẩm tương đối trong các buồng nuôi động vật thực nghiệm phải phù hợp với loài, ví dụ $(22 \pm 3) ^\circ\text{C}$ và độ ẩm tương đối 30 % đến 70 % đối với chuột cống trắng. Thông thường tần suất chiếu sáng nhân tạo là 12 giờ chiếu sáng và 12 giờ bóng tối.

Đối với việc cho ăn, có thể sử dụng các thức ăn phòng thí nghiệm thương phẩm chuẩn có cấp nước uống không hạn chế. Động vật được nuôi trong chuồng theo nhóm giới tính hoặc nuôi riêng biệt; khi nuôi theo nhóm thì không được vượt quá 5 con trong một chuồng.

6.2.3 Điều kiện thử nghiệm

6.2.3.1 Mức độ liều

Động vật thực nghiệm và đầu tư nguồn khác của nghiên cứu độc tính toàn thân tiếp xúc lặp lại cùng với mục tiêu thiết lập an toàn cho con người, bảo đảm việc xem xét nhiều nhóm để kiểm tra các tác động liều đáp ứng. Mức độ liều như mô tả trong 4.8.

Liều sử dụng cho các phép thử độ độc của các trang thiết bị y tế phải được xác định liên quan đến các kết quả đánh giá rủi ro, cân bằng liều tiếp xúc lâm sàng với sử dụng các nhân tố an toàn, như có thể áp dụng. Đối với các nghiên cứu dài hơn, cần có những nỗ lực để có ít nhất ba mức độ liều và các đối chứng thích hợp. Loại trừ việc xử lý với chất thử, động vật trong nhóm đối chứng phải được xử lý theo cách tương tự như động vật trong nhóm thử.

Không giống như các nghiên cứu hoá học cổ điển về độc tính toàn thân tiếp xúc lặp lại, các nghiên cứu tiếp xúc lặp lại với các trang thiết bị y tế thường không gây ra các tác động liều đáp ứng, do vậy một tác động độc tại mức độ liều cao nhất là không bắt buộc. Tuy nhiên, sử dụng một phổ liều sẽ cho ước tính có ích về ranh giới của độ an toàn cho con người.

6.2.3.2 Quy trình

Động vật được cho liều với mẫu thử lý tưởng trong 7 ngày/tuần, xuyên suốt giai đoạn nghiên cứu. Đối với các nghiên cứu tiếp xúc lặp lại dài hạn, việc cho liều trong 5 ngày/tuần có thể chấp nhận được nhưng phải được lập văn bản và giải thích.

6.2.4 Khối lượng cơ thể

Số đo khối lượng cơ thể phải lấy ngay trước khi cho liều, hàng tuần sau khi cho liều đầu tiên nếu được chỉ định theo thời gian nghiên cứu và cuối thời điểm nghiên cứu.

6.2.5 Quan sát lâm sàng

Giai đoạn quan sát cho một nghiên cứu độc tính toàn thân liều lặp lại phải phù hợp với thời gian nghiên cứu. Tính đặc hiệu về tần suất và loại quan sát được mô tả trong 4.10 và Phụ lục C. Trong mọi trường hợp, quan sát phải tiến hành ở một tần suất và phải hành động phù hợp để giảm thiểu sự mất mát của động vật khỏi nghiên cứu ví dụ như mổ xác hay đông lạnh những con vật chết và cách ly hoặc gây chết những con vật yếu hoặc đang hấp hối. Quan sát bên chuồng phải bao gồm, nhưng không giới hạn với những thay đổi ở da, lông, mắt và màng nhày và cả hô hấp, tuần hoàn tự chủ và hệ thần kinh trung ương, hoạt động sinh dưỡng và dạng hành vi sử dụng các công cụ mô tả trong Phụ lục C.

Thông thường việc kiểm tra mắt bằng một kính soi đáy mắt hoặc thiết bị phù hợp tương ứng, phải được tiến hành trước khi đưa chất thử vào cơ thể và tại thời điểm kết thúc nghiên cứu, có thể phù hợp nhất là trong tất cả các động vật nhưng ít nhất ở nhóm đối chứng và nhóm cho liều cao. Nếu phát hiện thấy những thay đổi trong mắt thì phải kiểm tra tất cả động vật. Các trường hợp không kiểm tra phải được lập văn bản và giải thích.

6.2.6 Bệnh học

6.2.6.1 Bệnh học lâm sàng

Cần tiến hành các kiểm tra sau đây:

- a) Huyết học, như mô tả trong Phụ lục C, phải xem xét kiểm tra tại cuối giai đoạn thử. Phụ thuộc vào độ dài của nghiên cứu mà xem xét việc lấy mẫu thường xuyên hơn.
- b) Xác định hoá sinh lâm sàng máu phải được tiến hành tại cuối giai đoạn thử. Phụ thuộc vào độ dài của nghiên cứu mà xem xét việc lấy mẫu thường xuyên hơn. Các vùng thử được xem là thích hợp với các nghiên cứu tiếp xúc lặp lại là cân bằng chất điện phân, trao đổi chất cacbonhydrat, chức năng gan và thận. Chọn các phép thử riêng có thể bị ảnh hưởng bởi quan sát kiểu hoạt động của chất thử. Các xác định gợi ý được liệt kê trong Phụ lục D. Hoá sinh lâm sàng bổ sung có thể được sử dụng khi cần thiết để mở rộng quan sát các tác động đã quan sát được.

Phân tích nước tiểu về cơ bản là không cần thiết, chỉ tiến hành khi có chỉ định dựa trên độ độc có thể có hoặc quan sát được. Các thông số gợi ý được liệt kê trong Phụ lục D.

Số liệu trước đây cho các giá trị thông thường có ích để thiết lập mức độ ranh giới và để so sánh với các đối chứng nghiên cứu hiện có. Nếu số liệu ranh giới trước đây không phù hợp thì phải xem xét đến việc thu thập thông tin này cho các động vật cùng tuổi, giới tính, chủng và nguồn, ưu tiên trong cùng phòng thí nghiệm.

6.2.6.2 Bệnh học tổng quát

Tất cả các con vật phải được mổ toàn bộ xác, bao gồm kiểm tra bề mặt ngoài của cơ thể, tất cả các lỗ miệng, các khoang sọ, khoang ngực và khoang bụng cũng như các thành phần bên trong. Thượng thận, não bộ, mào tinh hoàn, tim, thận, gan, buồng trứng, lá lách, tinh hoàn, tuyến ức, và tử cung phải được cân ướt càng sớm càng tốt sau khi cắt để tránh bị khô và các giá trị thấp giả tạo. Cơ quan và mô liệt kê trong Phụ lục E nên được bảo quản trong môi trường thích hợp để kiểm tra mô bệnh học có thể trong tương lai.

6.2.6.3 Mô bệnh học

- a) Mô bệnh học tổng thể nên được tiến hành trên các cơ quan và mô từ con vật trong nhóm đối chứng và nhóm cho liều cao.
- b) Tất cả tổn thương tổng thể phải được kiểm tra.
- c) Phổi của động vật trong nhóm cho liều thấp và trung gian, nếu được sử dụng, phải được kiểm tra mô bệnh học để lấy bằng chứng về việc nhiễm bệnh, vì điều này cho một đánh giá thuận tiện về trạng thái sức khoẻ của động vật. Cũng cần xem xét kiểm tra mô bệnh học của gan và thận trong các nhóm này. Có thể không cần thiết kiểm tra mô bệnh học kỹ hơn trên các động vật trong các nhóm này, nhưng phải luôn luôn tiến hành ở các cơ quan biểu hiện bằng chứng tổn thương trong nhóm liều cao.

TCVN 7391-11 : 2007

- d) Khi sử dụng nhóm vệ tinh, mô bệnh học có thể được tiến hành trên mô và cơ quan được xác định là biểu hiện các tác động trong các nhóm đã xử lý.
- e) Nhìn chung, đối với các nghiên cứu mãn tính, phải sử dụng động vật canh gác để kiểm soát sự xuất hiện các tác nhân gây nhiễm trùng. Huyết thanh học hoặc mô học của các nhóm canh gác có thể được thực hiện như chỉ định.

6.3 Tiêu chí đánh giá

6.3.1 Quy định chung

Dữ liệu được tóm tắt ở dạng bảng biểu, biểu thị số lượng động vật tại thời điểm ban đầu của nghiên cứu, số lượng động vật tổn thương, loại tổn thương và tỷ lệ động vật mang mỗi loại tổn thương cho từng nhóm thử. Đánh giá thống kê được tiến hành nhưng mối liên quan sinh học phải được xem xét trước tiên. Tất cả các phương pháp thống kê được chấp nhận nói chung có thể được sử dụng; phương pháp thống kê phải được lựa chọn trong khi thiết kế nghiên cứu.

6.3.2 Đánh giá kết quả

Các phát hiện của một nghiên cứu tiếp xúc lặp lại phải được đánh giá cùng với các phát hiện của các nghiên cứu trước và được xem xét về mặt tác động độc, các phát hiện mô xác và mô bệnh học. Đánh giá bao gồm quan hệ giữa liều của chất thử và sự có mặt hoặc không có cũng như sự xuất hiện và độ nghiêm trọng của các bất thường bao gồm bất thường hành vi và lâm sàng, tổn thương toàn bộ, thay đổi cực nhỏ, nhận dạng cơ quan đích, các tác động tử vong và bất kỳ các tác động chung hoặc riêng khác.

6.4 Báo cáo tổng kết

Thông tin trong 5.4 phải có trong báo cáo tổng kết đối với nghiên cứu độc tính toàn thân tiếp xúc lặp lại. Ngoài ra phải cung cấp các thông tin sau đây:

- phép thử huyết học đã sử dụng và kết quả với dữ liệu ranh giới tương ứng;
- phép thử hoá sinh lâm sàng đã sử dụng và các kết quả với dữ liệu ranh giới tương ứng;
- phát hiện mô bệnh học;
- đánh giá thống kê các kết quả nếu sử dụng và thảo luận ý nghĩa mặt sinh học của kết quả.

Nghiên cứu độc tính toàn thân dài hạn sẽ cung cấp thông tin về tác động của tiếp xúc lặp lại với một chất thử. Phép ngoại suy kết quả nghiên cứu cho người có giá trị đến một mức độ hạn chế nhưng nó có thể cung cấp thông tin có ích về tiếp xúc cho phép.

Phụ lục A

(tham khảo)

Các cách đưa mẫu thử vào cơ thể

A.1 Khái quát

Một số cách đưa mẫu thử vào cơ thể được liệt kê trong A.2 đến A.10. Các cách khác để đưa mẫu thử vào cơ thể có thể thích hợp hơn về mặt lâm sàng và nên được sử dụng. Cách đưa mẫu thử vào cơ thể thích hợp nhất nên được sử dụng. Nếu dùng cách thay thế để đưa mẫu thử vào cơ thể thì phải giải thích. Nên có sự tư vấn của các chuyên gia khi thiết kế nghiên cứu phù hợp.

A.2 Ngoài da

Các phép thử độc tính toàn thân qua đường ngoài da có thể thích hợp với các trang thiết bị sử dụng bề mặt. Phải xem xét đến hạn chế của việc đưa mẫu thử vào miệng động vật.

A.3 Cấy dưới da

Các phép thử độc tính toàn thân qua đường cấy ghép có thể thích hợp với các trang thiết bị cấy ghép. Phép thử có thể thích hợp cho thử nghiệm trực tiếp một vật liệu bằng cách ứng dụng đến một vùng chung hoặc riêng. Hình dạng và cấu trúc của vật thử cần phải được xem xét. Các phương pháp cấy ghép có thể tìm thấy trong TCVN 7391-6 (ISO 10993-6).

A.4 Hít vào

Các phép thử độc tính toàn thân qua đường thở có thể thích hợp với các trang thiết bị có môi trường tiếp xúc cho phép hoá chất dễ bay hơi qua, hoặc với mẫu thử dạng hơi/hạt có thể hít vào. Phương pháp cụ thể cho cách này có thể tìm thấy trong hầu hết các văn bản chuyên dùng nhất về độc học do hít vào.

A.5 Nội bì

Các phép thử độc tính toàn thân qua đường nội bì có thể thích hợp với các trang thiết bị có môi trường tiếp xúc nội bì cho phép hoá chất thấm qua. Mẫu thử thường được đưa trực tiếp vào vùng nội bì bằng cách tiêm. Sử dụng nhiều vị trí xử lý phải được mô tả và chứng minh rõ ràng.

A.6 Trong cơ

Các phép thử độc tính toàn thân qua đường trong cơ có thể thích hợp với các trang thiết bị có môi trường tiếp xúc là mô cơ cho phép hoá chất thấm qua. Mẫu thử thường được đưa trực tiếp vào mô cơ bằng cách tiêm hoặc cấy phẫu thuật. Các vị trí cần được chọn lựa để giảm thiểu sự mất chức năng hoặc

TCVN 7391-11 : 2007

khả năng đau do phá huỷ thần kinh bởi căng sợi cơ do mẫu thử được tiêm vào hoặc được cấy ghép. Các vị trí phải được luân phiên nhau cho các nghiên cứu liều lặp lại, ví dụ các công thức không chứa dịch có thể giữ lại như kho chứa trong vòng hơn 24 giờ. Sử dụng nhiều vị trí xử lý phải được mô tả và chứng minh rõ ràng.

A.7 Trong bụng

Các phép thử độc tính toàn thân qua đường vào bụng có thể thích hợp với các trang thiết bị có môi trường tiếp xúc là đường dịch hoặc khoang bụng cho phép hoá chất thấm qua. Đây cũng là cách thích hợp khi chất chiết không nên đưa theo đường tĩnh mạch, chẳng hạn như với các chất chiết dầu không phân cực và khi có các hạt. Cách này thích hợp để lọc dịch tiêm tĩnh mạch. Mẫu thử thường được đưa trực tiếp vào khoang bụng. Tính toán tần suất liều lượng nên xem xét đến vật thử được đưa bằng cách này được hấp thụ chủ yếu qua tuần hoàn bàng hệ và chính vì vậy, phải đi qua gan trước khi vào hệ tuần hoàn chung. Phải thận trọng không tiêm vào dạ dày hoặc đường ruột.

A.8 Trong tĩnh mạch

Các phép thử độc tính toàn thân qua đường tĩnh mạch có thể thích hợp với các trang thiết bị có môi trường tiếp xúc trực tiếp hoặc gián tiếp với đường dịch lỏng hoặc máu cho phép hoá chất thấm qua. Các mẫu thử thường được đặt vào hoặc truyền trực tiếp vào hệ mạch. Nếu có các hạt thì phải xem xét việc chuyển bằng cách qua đường trong bụng hoặc lọc mẫu. Thử tích liều khuyến nghị và tốc độ truyền cho các nghiên cứu trong tĩnh mạch với các loài động vật phòng thí nghiệm đã sử dụng phổ biến nhất được liệt kê trong Phụ lục B.

Phải thận trọng để giảm thiểu khả năng tiêm mẫu thử ra ngoài mạch. Tiêm thường mất 5 phút hoặc nhiều hơn và phải xem xét việc sử dụng một kim tiêm burred hoặc ống thông dò tĩnh mạch.

A.9 Miệng

Các phép thử độc tính toàn thân qua đường miệng có thể thích hợp với các trang thiết bị tiếp xúc trực tiếp hoặc gián tiếp với niêm mạc miệng, hoặc với các sản phẩm có các ứng dụng trong ruột khác. Mẫu thử thường được đưa vào bằng ống đưa thẳng vào dạ dày. Động vật thực nghiệm thường bị nhịn đói trước khi đưa mẫu thử vào. Thời gian nhịn đói có thể từ vài giờ đến qua đêm, với khoảng thời gian ngắn hơn cho các động vật có tốc độ trao đổi chất cao hơn. Tiếp theo giai đoạn bỏ đói, động vật phải được cân và sau đó chỉ được đưa một liều mẫu thử vào dựa trên khối lượng cơ thể. Sau khi đưa mẫu thử vào, có thể không bổ sung thức ăn 3 giờ đến 4 giờ. Khi đưa một liều thành từng phần nhỏ qua một giai đoạn nhất định thì có thể cần cung cấp cho động vật thức ăn và nước uống phụ thuộc vào độ dài của giai đoạn.

A.10 Dưới da

Các phép thử độc tính toàn thân bằng con đường dưới da có thể thích hợp với một trang thiết bị có môi trường tiếp xúc dưới da cho phép hoá chất thấm qua. Các mẫu thử thường được đưa trực tiếp vào vùng dưới da bằng cách tiêm hoặc cấy ghép. Sử dụng nhiều vị trí xử lý phải được mô tả và chứng minh rõ ràng.

Phụ lục B

(tham khảo)

Thể tích liều**B.1 Khái quát**

Các nguyên tắc nghiên cứu động vật nhân đạo yêu cầu tất cả những nỗ lực cần có để giảm thiểu hoặc loại bỏ tất cả các tác động bệnh học và sinh lý có hại. Các giá trị được liệt kê trong Bảng B.1 là các giới hạn tối đa được báo cáo trong tài liệu. Các giá trị này không được xem như là một khuyến nghị trong tiêu chuẩn này, nhưng các nhà nghiên cứu nên áp dụng các giới hạn trên liên quan đến các nhân tố như khối lượng cơ thể/diện tích bề mặt, tốc độ đưa mẫu thử vào cơ thể, các đặc điểm lý hoá và sinh học của mẫu thử và chủng động vật. Phải cố gắng giảm thiểu thể tích liều khi xem xét các yếu tố điều chỉnh này.

Bảng B.1 – Thể tích liều tối đa để đưa mẫu thử vào cơ thể

Loài	Dưới da ml/kg	Trong cơ ml/kg	Trong bụng ml/kg	Nuốt qua ống ml/kg	Tĩnh mạch ml/kg
Chuột cống trắng	20	1	20	50	40
Chuột nhắt	50	2	50	50	50
Thỏ	10	1	20	20	10
Chó	2	1	20	20	10
Khỉ	5	1	20	15	10

CHÚ THÍCH Các quy chuẩn của từng quốc gia có thể không sử dụng các thể tích tối đa nêu trên. Nhìn chung kiến nghị rằng đưa mẫu thử vào trong cơ ở loài gặm nhấm không vượt quá 0,1 ml/vị trí (chuột nhắt) và 0,2 ml/vị trí (chuột cống trắng).

B.2 Tham khảo thể tích liều

Xem Thư mục tham khảo, Phần 2 [10-15].

Phụ lục C

(tham khảo)

Quan sát và dấu hiệu lâm sàng thông thường**Bảng C.1 – Quan sát và dấu hiệu lâm sàng thông thường**

Quan sát lâm sàng	Dấu hiệu quan sát	Hệ thống liên quan
Hô hấp	Khó thở (thở khác thường, thở hỗn hển), ngừng thở, chứng xanh tím, thở gấp, chảy mũi	CNS, phổi, tim
Hoạt động thần kinh vận động	Tăng/giảm trạng thái ngủ lơ mơ, mất thăng bằng, mê man, chứng giữ nguyên thế, sự mất điều hoà, vận động khác thường, kiệt sức, rùng mình, tạo bó	CNS, vận động sinh dưỡng, giác quan, thần kinh cơ, thần kinh tự chủ
Rối loạn	Chứng giật rung, trương lực, giật rung-trương lực, ngạt, uốn người ra sau	CNS, thần kinh cơ, thần kinh tự chủ, hô hấp
Phản xạ	Màng sừng, đứng thẳng, xúc giác cơ, ánh sáng, phản xạ giật mình	CNS, giác quan, thần kinh tự chủ, thần kinh cơ
Dấu hiệu thị giác	Chảy nước mắt, thu hẹp đồng tử, tật giãn đồng tử, lồi mắt, chứng sa mi mắt, mờ đục, viêm mống mắt, viêm màng kết, giãn màng nháy	Thần kinh tự chủ, kích ứng
Dấu hiệu tim mạch	Nhịp tim chậm, nhịp tim nhanh, chứng loạn nhịp, sự giãn mạch, sự co mạch	CNS, thần kinh tự chủ, tim mạch, phổi
Tiết nhiều nước bọt	Vượt mức	Thần kinh tự chủ
Sự dựng lông	Lông bồm xồm	Thần kinh tự chủ
Chứng mất cảm giác đau	Giảm phản ứng	CNS, giác quan
Tiếng cơ	Giảm trương lực, tăng trương lực	Thần kinh tự chủ
Dạ dày – ruột	Phân nhão, ỉa chảy, nôn, tiểu tiện nhiều, táo bón	CNS, thần kinh tự chủ, giác quan, vận động GI, thận
Da	Phù, ban đỏ	Phá huỷ mô, kích ứng

Phụ lục D

(tham khảo)

Dự kiến các phép đo huyết học, hoá học lâm sàng và phân tích nước tiểu

D.1 Huyết học

- Khả năng đông máu (PT, APTT)
- Nồng độ haemoglobin
- Haematocrit
- Đếm tiểu cầu
- Đếm tế bào hồng cầu
- Đếm tế bào bạch cầu
- Chênh lệch WBC

D.2 Hoá học lâm sàng

- Albumin
- ALP
- ALT
- AST
- Canxi
- Clorit
- Cholesterol
- Creatinin
- GGT
- Glucoza
- Photphat vô cơ
- Kali
- Natri
- Bilirubin tổng số
- Protein tổng số
- Triglycerit

- Nitơ urê
- Các enzym bổ sung phù hợp về mặt khoa học
- Mức độ globulin miễn dịch có thể được xem như một chỉ thị của độ độc hệ miễn dịch

D.3 Phân tích nước tiểu (lấy mẫu theo thời gian, ví dụ 16 giờ đến 24 giờ)

- Dạng
- Bilirubin (sắc tố màu da cam)
- Glucoza
- Keton
- Máu huyền bí
- Protein
- Cặn
- Khối lượng riêng hoặc độ thẩm thấu
- Thể tích
- Các phép thử khác thích hợp về khoa học nếu vật thử bị nghi là gây ra độc tính cho các cơ quan cụ thể (nhìn chung cần lấy mẫu để lạnh).

Phụ lục E

(tham khảo)

Dự kiến danh mục các cơ quan cho đánh giá mô bệnh học

- Tuyến thượng thận* ¹⁾
- Toàn bộ vùng tổn thương (bao gồm cả vị trí xử lý)
- Động mạch chủ
- Xương ống (xương đùi, xương sườn hoặc xương ức)
- Não* (các phần đại diện gồm não, tiểu não và học cầu)
- Manh tràng
- Kết tràng
- Tá tràng
- Mào tinh hoàn*
- Thực quản
- Mắt
- Túi mật (nếu có)
- Tim*
- Hồi tràng
- Ruột chày
- Thận*
- Gan*
- Phổi và khí quản (được bảo quản bằng cách thổi phồng với chất cố định và sau đó ngâm nước)
- Hạch lympho (tạ chỗ để bao trùm cả vị trí đưa mẫu thử vào cơ thể và xa để bao trùm các tác động toàn thân)
- Tuyến vú (con cái)

¹⁾ Cùng với đánh giá mô bệnh học, các mô/cơ quan đánh dấu hoa thị (*) phải được cân, với các cơ quan khác cũng nên cân nếu thích hợp về mặt khoa học. Các phát hiện lâm sàng và phát hiện khác có thể gợi ý sự cần thiết để kiểm tra thêm các mô. Ngoài ra, bất kỳ cơ quan nào được xem có thể là cơ quan đích dựa trên các đặc điểm đã biết của chất thử phải được bảo quản.

Mô bệnh học tổng quát phải được tiến hành trên các cơ quan và mô đã được bảo quản của tất cả các con vật trong nhóm liều đối chứng và nhóm liều cao nhất. Các kiểm tra này cả mô/cơ quan đích đến đặc hiệu nếu cần thiết phải được mở rộng ra các con vật của các nhóm liều khác nếu những thay đổi liên quan đến xử lý được quan sát trong nhóm liều cao nhất.

- Cơ (cơ vân)
- Ống mũi (cho các nghiên cứu hít vào)
- Dây thần kinh (vùng hông hoặc chày) có thể ưu tiên gắn với cơ
- Bồng trứng*
- Tuyến tụy
- Tuyến cận giáp
- Tuyến yên
- Tuyến tiền liệt
- Trực tràng
- Tuyến nước bọt
- Túi tinh
- Da
- Tuỷ sống
- Lá lách*
- Mỏ ác
- Dạ dày
- Tinh hoàn*
- Tuyến ức*
- Tuyến giáp
- Khí quản
- Bóng đái
- Tử cung* (bao gồm cổ và ống)
- Âm đạo

Phụ lục F

(tham khảo)

Thông tin về chất gây sốt do vật liệu

Gây sốt là khả năng một hoá chất hoặc chất khác gây ra phản ứng sốt. Phản ứng sốt có thể do vật liệu, nội độc tố gây ra hoặc có thể do các chất khác, ví dụ các thành phần của vi khuẩn gram dương và nấm. Tiêu chuẩn này chỉ quan tâm đến gây sốt do vật liệu.

Không cần thiết thử khả năng gây sốt *in vivo* của tất cả các trang thiết bị y tế mới. Tuy nhiên, vật liệu mang các thực thể hoặc các hoá chất trước đây đã gây ra phản ứng sốt thì phải được đánh giá khả năng gây sốt do vật liệu. Nhiễm nội độc tố có thể là một nguồn của phản ứng gây sốt, và không được nhầm lẫn với phản ứng gây sốt do vật liệu.

– Gây sốt do nội độc tố

Dạng gây sốt này bắt nguồn từ nội độc tố có hoạt tính sinh học của vi khuẩn gram dương, thường là một quá trình nhiễm gây sốt trong quá trình chế tạo trang thiết bị y tế và được đánh giá bằng cách đo lượng nội độc tố ở trang thiết bị bằng một phép thử LAL đặc hiệu nội độc tố không cần phép thử trên thỏ.²⁾

– Gây sốt do vật liệu

Loại gây sốt này bắt nguồn từ các nhân tố không liên quan đến nội độc tố. Sau đây là danh mục các chất được biết là gây ra một phản ứng sốt không phải là nội độc tố:

- Chất gây sốt nội sinh (ví dụ như IL-1, IL-6, TNF α , INF- γ);
- Prostaglandin;
- Các chất cảm ứng (ví dụ như axit polyadenylic, axit polyuridylic, axit polybionosinic và axit polyribocytidylic);
- Các chất phá huỷ chức năng của trung tâm điều hoà nhiệt (ví dụ như LSD, cocain, morphin);
- Các chất không cặp đôi của phản ứng phosphoryl hoá ôxi hoá (ví dụ như 4,6-dinitro-o-cresol, dinitrophenol, axit picric);
- N-phenyl- β -naphthylamin và aldo- α -naphthylamin (cơ chế gây sốt chưa được biết);
- Ngoại độc tố của vi khuẩn (ví dụ như TSST-1, SEA, Spe F, Spe C);
- Chất truyền dẫn thần kinh (ví dụ như noradrenalin, serotonin);
- Các kim loại như muối nicken trong một số trường hợp.

²⁾ Thử nghiệm LAL: AAMI/ST72 – Nội độc tố vi khuẩn – Các phương pháp thử, giám sát thường quy và các phương pháp thay thế cho thử nghiệm theo lô.

Để phát hiện khả năng gây sốt do vật liệu, phép thử hiện kiến nghị gây sốt trên thỏ có một phổ rộng để phát hiện hoạt tính gây sốt hiện được kiến nghị. Các phương pháp tiến hành phép thử gây sốt trên thỏ có thể thấy trong Dược điển Hoa Kỳ, Dược điển Châu Âu và Dược điển Nhật Bản. Phép thử LAL không phù hợp để xác định khả năng gây sốt của những chất này. Nếu có phương pháp khác để phát hiện khả năng gây sốt không phải do nội độc tố được phát triển và có giá trị thì các phương pháp này sẽ được xem xét để thay thế phép thử trên thỏ.

Các thành tựu gần đây là các phương pháp dựa trên giải phóng cytokin bởi bạch cầu mono/các đại thực bào có thể phát hiện sự gây sốt liên quan đến các thành phần của vi khuẩn gram dương, vi khuẩn gram âm và nấm. Các phương pháp này không có giá trị đối với khảo nghiệm khả năng gây sốt do vật liệu.

Thư mục tài liệu tham khảo

1. Phần chung

- [1] U.S./EPA PB 86/108958 và 89/124077
- [2] U.S./EPA Toxicological principles for the safety assessment of direct food additives (*Các nguyên lý độc học để đánh giá độ an toàn của phụ gia thực phẩm trực tiếp*), 1982.
- [3] U.S Code of Federal Regulation 1500.40: Method of Testing Toxic Substances (*Phương pháp thử nghiệm chất độc*)
- [4] Dược điển Hoa Kỳ 26: *Biological Reactivity Tests, In Vivo* (*Phép thử phản ứng sinh học in vivo*); The National Formulary 21, Rockville, MD; Pharmacopoeial Convention, 2003 pp. 2028-2032
- [5] ASTM F 619-03, Standard Practice for Extraction of Medical Plastics (*Thực hành chuẩn để chiết nhựa y tế*)
- [6] SN119800:1990, Biological Evaluation of Dental Materials (*Đánh giá sinh học vật liệu nha khoa*)
- [7] Dược điển Châu Âu, Xuất bản lần thứ 4, 2002
- [8] MHLW Notification No.0213001(2003.02.13) Principles for Biological Safety Evaluation of Medical Devices (*Các nguyên tắc để đánh giá an toàn sinh học của trang thiết bị y tế*)
- [9] Halle, W. (2003) The Registry of Cytotoxicity: Toxicity testing in cell cultures to predict acute toxicity (LD_{50}) and to reduce animal testing [*Đăng ký độ độc tế bào: Thử nghiệm độc tính trong nuôi cấy tế bào để dự đoán độc tính cấp (LD_{50}) và để giảm thử nghiệm động vật*], ATLA 31:89-98

2. Tham khảo thể tích liều

- [10] HULL, R.M. Guideline limit volumes for dosing animals in the preclinical stage of safety evaluation (*Hướng dẫn thể tích giới hạn để cấp liều động vật trong giai đoạn tiền lâm sàng của việc đánh giá an toàn*), Human and Environmental Toxicology, 1995, 14, pp. 305-307
- [11] DERELANKO, M.J. và HOLLINGER, M.A. CRC *Handbook of Toxicology* (*Sổ tay độc học*), CRC Press, NY, 2nd edition, 2001, p. 98
- [12] DIEHL, K.-H. et al. A good practice guide to the administration of substances and removal of blood, including routes and volumes, *J. Applied toxicology*, 21, 2001, pp. 15-23
- [13] MORTON, D. et al. Effects of infusion rates in rats receiving repeated large volumes of intravenous saline solution, *Laboratory Animal Sciences*, 47, 1997, pp. 656-659
- [14] RICHMOND, J.D. Dose limit volumes: the United Kingdom view – past and present. Presented at the Humane Society of the United States – Refinement in Toxicology Testing: Dosing Data: Volume and Frequency, March 14, 1999, New Orleans, LA
- [15] MORTON, D.B. et al. Refining procedures for the administration of substances. Report of the BVAAWF/FRAME/RSPCA/UFPAW Joint Working Group on Refinement, *Laboratory Animals*, 35, 2001, pp 1-41