



جمهوری اسلامی ایران

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

شماره استاندارد ایران

4688



آزمون حساسیتزائی وسایل پزشکی از طریق بیشینهسازی

چاپ اول

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران تنها سازمانی است در ایران که بر طبق قانون میتواند استاندارد رسمی فرآوردهها را تعیین و تدوین و اجرای آنها را با کسب موافقت شورای عالی استاندارد اجباری اعلام نماید. وظایف و هدفهای موسسه عبارتست از: (تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی - انجام تحقیقات بمنظور تدوین استاندارد بالا بردن کیفیت کالاهای داخلی، کمک به بهبود روشهای تولید و افزایش کارائی صنایع در جهت خودکفائی کشور - ترویج استانداردهای ملی - نظارت بر اجرای استانداردهای اجباری - کنترل کیفی کالاهای صادراتی مشمول استانداردهای اجباری و جلوگیری از صدور کالاهای نامرغوب به منظور فراهم نمودن امکانات رقابت با کالاهای مشابه خارجی و حفظ

بازارهای بین المللی کنترل کیفی کالاهای وارداتی مشمول استاندارد اجباری به منظور حمایت از مصرف کنندگان و تولیدکنندگان داخلی و جلوگیری از ورود کالاهای نامرغوب خارجی راهنمایی علمی و فنی تولیدکنندگان، توزیع کنندگان و مصرف کنندگان - مطالعه و تحقیق درباره روشهای تولید، نگهداری، بسته بندی و ترابری کالاهای مختلف - ترویج سیستم متریک و کالیبراسیون وسایل سنجش - آزمایش و تطبیق نمونه کالاها با استانداردهای مربوط، اعلام مشخصات و اظهارنظر مقایسه‌ای و صدور گواهی‌نامه‌های لازم .

موسسه استاندارد از اعضاء سازمان بین المللی استاندارد می باشد و لذا در اجرای وظایف خود هم از آخرین پیشرفتهای علمی و فنی و صنعتی جهان استفاده می نماید و هم شرایط کلی و نیازمندیهای خاص کشور را مورد توجه قرار می دهد. اجرای استانداردهای ملی ایران به نفع تمام مردم و اقتصاد کشور است و باعث افزایش صادرات و فروش داخلی و تأمین ایمنی و بهداشت مصرف کنندگان و صرفه جوئی در وقت و هزینه ها و در نتیجه موجب افزایش درآمد ملی و رفاه عمومی و کاهش قیمتتها می شود.

کمیسیون استاندارد روش آزمون حساسیتزائی وسایل پزشکی از طریق بیشینه‌سازی

رئیس

وزیری کاشانی - مژگان دکترای پزشکی -
پاتولوژیست

اعضاء

اکبرزاده خویی - تابنده	لیسانس بیولوژی	شرکت سوپا - سرپرست آزمایشگاه کنترل بیولوژی
زمانی - عباس	دکترای تغذیه	مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران
مایل - مژگان	لیسانس میکروبیولوژی	شرکت سها - سرپرست آزمایشگاه کنترل کیفی
مختاری - فهیمدخت	فوق لیسانس ایمینولوژی	مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران

دبیر

فهرست مطالب

روش آزمون حساسیت زائی. وسایل پزشکی از طریق بیشینه سازی

مقدمه

هدف

دامنه کاربرد

تعاریف و اصطلاحات

مواد لازم

وسایل لازم

حیوانات و نگهداری آنها

آماده کردن آزمون

روش کار

مشاهده و بررسی حیوانات

ارزیابی نتایج

بیان نتایج

بسمه تعالی

پیشگفتار

استاندارد روش آزمون حساسیت زائی وسایل پزشکی از طریق بیشینه سازی به وسیله کمیسیون فنی مربوطه تهیه و تدوین شده و در بیست و پنجمین کمیته ملی استاندارد پزشکی مورخ 1377/5/5 مورد تأیید قرار گرفته ، اینک باستناد بند 1 ماده 3 قانون اصلاحی قوانین و مقررات مؤسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران مصوب بهمن ماه 1371 بعنوان استاندارد رسمی ایران منتشر می گردد.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با پیشرفتهای ملی و جهانی در زمینه صنایع و علوم ، استانداردهای ایران در مواقع لزوم مورد تجدیدنظر قرار خواهند گرفت و هرگونه پیشنهادی

که برای اصلاح یا تکمیل استانداردها برسد در هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه واقع خواهد شد.

بنابراین برای مراجعه به استانداردهای ایران باید همواره از آخرین چاپ و تجدیدنظر آنها استفاده نمود.

در تهیه و تدوین این استاندارد سعی شده است که ضمن توجه به شرایط موجود و نیازهای جامعه حتی المقدور بین این استاندارد و استانداردهای کشورهای صنعتی و پیشرفته هماهنگی ایجاد شود.

لذا با بررسی امکانات و مهارتهای موجود و اجرای آزمایشهای لازم این استاندارد با استفاده از منبع زیر تهیه گردیده است :

ISO 10993- 10 – Biological evaluation of medical devices

Part 10:

Tests for irritation and sensitization

سال 1995

روش آزمون حساسیت زائی وسایل پزشکی از طریق بیشینه سازی

0- مقدمه

وسایل پزشکی به دلیل مصارف گسترده و متنوع انسانی ، بایستی از جنبه های مختلف بیولوژیک مورد ارزیابی قرارگیرند. یکی از عمومی ترین آزمون های ارزیابی بیولوژیک ، آزمون های حساسیت زایی می باشند که انجام آنها برای اغلب وسایل پزشکی توصیه شده است .

برای انجام آزمون های حساسیت زایی ، رعایت ترتیب و اولویت در اجرای تمام و یا هر یک از مراحل زیر پیشنهاد می شود:

الف : بازنگری اطلاعات و دانسته های قبلی

ب: آزمون های Invitro

ج: آزمون های Invivo

د: آزمون های غیرتهاجمی انسانی¹ یا آزمونهای بالینی²

مرحله بازنگری اطلاعات و دانسته های قبلی ، بایستی شامل ارزیابی خصوصیات فیزیکی و شیمیایی و همچنین اطلاعات در مورد ساختمان مواد و یا مواد شیمیایی باشد که از نظر ساختمانی با ماده مورد آزمون شباهت دارند در صورت عدم اطلاع از PH و pka مواد

(مایع ، محلول یا ماده استخراجی از مواد)، موارد فوق بایستی قبل از انجام آزمون های Invivo یا Invitro اندازه گیری شوند.

مرحله دوم شامل ارزیابی آزمون های Invitro می شود. انجام این آزمون ها نسبت به آزمون های Invivo ارجحیت دارند. در مواردی که آزمون های جدید Invitro اعتبار لازم را پیدا کرده و قابل دسترسی و انجام باشند، بایستی آنها را جایگزین آزمون های Invivo نمود.

در مرحله سوم مطالعات حاد Invivo برای آزمایش موادی انجام می شوند که به عنوان حساسیت زای قوی³، از طریق موارد الف و ب همین بند، طبقه بندی نشده اند. در مواردی که قابلیت شدید حساسیت زایی در ماده مورد آزمون مشاهده نشود، می توان با مواجهات مکرر⁴ آن ماده را مورد بررسی بیشتر قرارداد. استفاده از شاهد مثبت در تمامی آزمون های Invivo ضروری نمی باشد. یک شاهد مثبت بایستی به صورت ادواری ، برای تأیید اعتبار سیستم آزمون و نمایش پاسخ مثبت بکار برده شود.

در صورتی که ارزیابی از طریق مراحل فوق امکان پذیر نباشد، بایستی توجه را به انجام آزمون های غیر تهاجمی در انسان معطوف داشت . در حال حاضر هیچ آزمون معتبر Invitro (به غیر از غربالگری های ساده) برای شناسایی مواد حساسیت زا وجود ندارد. برای این منظور فقط می توان از آزمون های Invivo در گونه های غیرانسانی استفاده کرد.

روش های مختلف Invivo برای تشخیص حساسیت زایی پوستی ، با استفاده از خوکچه هندی وجود دارد. دو روش عمده معمول عبارتند از روش بیشینه سازی⁵ (تشدید حساسیت با افزودن مرحله القا داخل جلدی به مرحله القا موضعی) و روش تماس مستقیم وصله⁶. استفاده از یکی از این دو روش کفایت می کند. آزمون بیشینه سازی ، دارای بالاترین میزان دقت بوده و بخصوص در مواردی که مواد استخراجی ، جهت ارزیابی مورد نظر باشند، نسبت به سایر روش ها ارجحیت دارد.

در طراحی و انتخاب آزمون ها، عوامل زیر بایستی در نظر گرفته شوند: خصوصیات بیوشیمیایی و فیزیکی مواد مورد آزمون ممکن است در انتخاب آزمون تأثیر داشته باشند. همانگونه که ذکر شد آزمون بیشینه سازی مستلزم تزریق داخل جلدی می باشد. اگر مواد مورد آزمون قابل تزریق به داخل جلد نباشند، بایستی روش تماس مستقیم وصله و یا روش جایگزین دیگری مورد استفاده قرارگیرد.

حلالی که انتخاب می کنید، بایستی از طریق قابلیت حل کردن و نفوذ، بتواند میزان مناسبی از ماده مورد آزمون را در معرض بافت قرار دهد. در انتخاب غلظت ماده مورد آزمون، بالاترین غلظتی را که تأثیر سوء در تفسیر نتایج نداشته باشد، در نظر بگیرید. در کاربردهای موضعی⁷، غلظت ماده مورد آزمون در سطح پوست اهمیت دارد نه حجم کل آن.

در مواردی که همیار کامل فروند⁸ به داخل پوست تزریق می شود، صدمه به پوست اجتناب ناپذیر است.

جهت دستیابی به نتایج صحیح، بایستی زمان مواجهه⁹ را به اندازه کافی، برای تمام مراحل آزمون در نظر گرفت. آزمونها شامل سه مرحله مقدماتی¹⁰، القایی¹¹، و مواجهه ثانویه¹² می باشند که هر سه مرحله دارای اهمیت هستند، ولی در نظر گرفتن فواصل زمانی برای قرائت نتایج و امتیاز دهی در بین هر یک از مراحل، تا آن حد اهمیت دارد که بتواند ویژگی های تأخیری و پایداری¹³ را برای واکنش های حساسیت¹⁴ شدید نشان دهد. امتیازدهی واکنش ها در مرحله القایی، اطلاعات زیادی را برای تفسیر نتایج در اختیار ما قرار نمی دهد و ضروری نمی باشد. قراردادن وصله ها در ناحیه تهیگاهی¹⁵ کوچک هندی اجباری نمی باشد. نکته مهم تماس وصله ها با پوست لخت است.

برای اعلام نتایج مثبت، مقایسه حیوانات تحت آزمون، در مرحله مواجهه ثانویه، با شاهد های مناسب، ضروری می باشد. شدت ضایعات نیز در تفسیر نتایج کمک کننده خواهد بود.

بهترین راه مشخص نمودن واکنش های غیر مشخص بینابینی¹⁶ در مرحله مواجهه ثانویه، انجام مواجهه مجدد می باشد. عموماً بررسی های هیستوپاتولوژی دارای ارزش تشخیصی نمی باشد.

وجود یک نتیجه مثبت در آزمون، ضرورتاً نمی تواند ماده یا وسیله ای را از رده استفاده خارج سازد. زیرا دوز بکار گرفته شده در روش اجرائی آزمون، ممکن است نسبت به حالات واقعی مصرف، بصورت اغراق آمیزی افزایش یافته باشد. دستیابی به یک پاسخ مثبت از طریق هر یک از روش های معتبر، جمع آوری اطلاعات بیشتری را در مورد سوابق آزمایش آن ماده در کوچک هندی یا انسان ایجاب می نماید، تا از این طریق بتوان مخاطرات مصرف آن ماده را در انسان ارزیابی کرد. قابلیت حساسیت زایی نسبی مواد را، می توان به صورت حداقل غلظت القایی لازم، برای ایجاد یک سطح حساسیت زایی

تعریف شده ، مشخص نمود. انجام این امر، لاقلاً مستلزم چندین بررسی برای یافتن غلظت های مناسب و ناقل های ¹⁷ مناسب می باشد. تکرار آزمون با روش های دیگر و استفاده از روش های مواجهه باز¹⁸ (برای اجتناب از اثرات غیراختصاصی نوار و پوشش) دارای ارزش علمی و عملی خواهد بود. انجام آزمون های تحریکی ، با بکارگیری وصله های تشخیصی مناسب ، می تواند به صورتی مؤثر، میزانی از ماده حساسیت زا را که مصرف آن بدون خطر می باشد، تعیین کند.

برای محصولاتی که استفاده گسترده ای در پوست طبیعی و یا غیرطبیعی دارند هیچ گونه ریسکی قابل قبول نخواهد بود. هرچند که در برخی محصولات ، وجود اجزای بالقوه حساسیت زا، با غلظت های موجه ، بدلیل دارا بودن مزایای ذاتی شان ، قابل قبول می باشد.

1- هدف

هدف از تدوین این استاندارد تعیین و ارائه روش آزمون ارزیابی حساسیت زایی وسایل پزشکی و اجزاء آن ها می باشد.

2- دامنه کاربرد

این روش آزمون برای اغلب وسایل پزشکی که بر حسب نوع و دوره تماس با بدن در استاندارد ملی ایران به شماره 4300(راهنمای گزینش آزمون جهت ارزیابی بیولوژیکی یا زیست شناختی وسایل پزشکی) تعیین و دسته بندی شده اند، کاربرد دارد.

3- تعاریف و اصطلاحات

در این استاندارد واژه ها و اصطلاحات با تعاریف زیر بکار برده می شوند.

3-1- تماس آلرژیک : حساسیت شدید تأخیری¹⁹ حاصل از تماس :

پاسخ آلرژیک با دخالت سیستمهای ایمنی که در اثر مواجهه²⁰ قبلی فعال شده اند.
3-2- تحریک زایی²¹ :

پاسخ آماسی موضعی بدون دخالت مکانیسم های ایمنی که از تأثیر منفرد، تکرار شونده یا مداوم مواد آزمایشی حاصل شود.

3-3- خیز²² :

تورم ناشی از ارتشاح غیر طبیعی مایعات در بافتها می باشد.

3-4- سرخی²³ :

قرمزی پوست یا غشأ مخاطی را گویند.

3-5- جوشگاه (اسکار) ²⁴:

اثر باقیمانده زخم بصورت ناحیه بی رنگ شده ناشی از ریزش پوست را گویند.

3-6- خوردگی ²⁵:

ایجاد آسیب غیرقابل برگشت بافتی ، در سطح تماس پوست با ماده آزمایشی است .

3-7- ایجاد زخم ²⁶:

جراحت باز که نشاندهنده از دست رفتن بافت سطحی می باشد.

3-8- نکروز ²⁷:

مرگ سلولها یا بافتها را گویند.

3-9- شاهد منفی ²⁸:

ماده ای که بسیار شبیه به ماده مورد آزمون بوده ، به هنگام آزمون ایجاد حساسیت ننماید،

3-10- شاهد مثبت ²⁹:

ماده ای که به هنگام آزمون ایجاد پاسخ حساسیتی قابل تکرار بنماید.

3-11- حلال ³⁰:

ماده ای که برای مرطوب کردن ، رقیق کردن ، تعلیق ، استخراج یا حل کردن مواد مورد آزمون مورد استفاده قرار می گیرد و شامل مواد شیمیایی ، مواد حامل ، محیطها و غیره می باشد.

3-12- شاهد معروف ³¹

همان حلال مورد استفاده برای مرطوب کردن ، رقیق کردن ، تعلیق ، حل کردن و یا استخراج ، که به موازات ماده مورد آزمون مورد ارزیابی قرار می گیرد را شاهد معرف گویند.

یادآوری 1- سایر واژه ها و اصطلاحاتی که در این استاندارد استفاده شده ولی در

تعاریف نیامده در استاندارد ملی شماره 4300 تعریف شده است

4- مواد لازم

4-1- محیط لازم برای استخراج مواد ³²:

حداقل یکی از محیطهای زیر لازم است :

الف - حلال قطبی : سالین فیزیولوژیک

ب - حلال غیر قطبی : هر نوع روغن نباتی (نظیر روغن کنجد، روغن پنبه EP یا USP) الئوم

خنثی ³³ (روغن نارگیل تجزیه شده BP37)

ج - محیط استخراج کننده مناسب غیر از موارد الف و ب نظیر محلول آب و الکل اتیلیک ، سالین و الکل اتیلیک ، پلی اتیلن گلیکول 400، دی متیل سولفواکساید، پروپانون (استن)، متانول ، کلروفرم ، سورفاکتانت رقیق شده ، روغن معدنی .

2-4- سدیم لوریل سولفات

3-4- وازلین

4-4- همیار کامل فروند

5- وسایل لازم

1-5- اتوکلاو: با توانایی تولید دمای مرطوب $121^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

2-5- اجاق یا گرم خانه : با توانایی تولید دمای $70^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

3-5- اجاق یا گرم خانه : با توانایی تولید دمای $50^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

4-5- گرم خانه : با توانایی تولید دمای $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$

5-5- ابزار برش : بر حسب نیاز (نظیر چاقوی جراحی ، قیچی ، اره)³⁴

6-5- پیپت : با حجمها و اندازه های مناسب ، معمولا 1، 5، 10 و 25 میلی لیتری

7-5- ترازو: با حداقل دقت توزین 0/1 گرم

8-5- وسایل اندازه گیری : نظیر خطکش میلیمتری ، پرگار

9-5- ظروف :

الف - لوله های شیشه ای از جنس بروسیلیکات با درپوش پیچی پوشیده شده با یک ماده

بی اثر نظیر PTFE(پلی تترافلورئواتیلن یا تفلون)

ب - سایر وسایل و ظروف شیشه ای برای استخراج مواد خاص بر حسب نیاز. ظروف نباید اثری بر ماده استخراجی داشته باشد.

10-5- ماشین تراش مو

11-5- وسایل تزریق

12-5- کاغذ صافی

13-5- گاز چهارلا، باند و وسایل پانسمان

14-5- حوله

6- حیوانات و نگهداری آنها

در شروع آزمایش بایستی از خوکچه های هندی آلبینو و سالم ، جوان ، بالغ با هر جنسیتی از یک نژاد واحد که از یک منبع واحد و شناخته شده تأمین شده باشند، با وزن

بین 300 تا 500 گرم استفاده کرد. اگر از حیوانات ماده استفاده شود آنها باید تا قبل از آزمون زایمان نکرده و آبستن نباشند.

حیوانات می توانند بصورت گروهی یا منفرد نگهداری شوند. نگهداری گروهی قویاً توصیه می گردد. حیوانات باید دسترسی به آب و غذا داشته باشند و حداقل پنج روز قبل از آزمایش با شرایط آزمایشگاه عادت کرده باشند، این زمان می تواند بر حسب ضرورت آزمایش بلندتر شود.

هر ضرورت دیگر برای محافظت از حیوانات بایستی تأمین شود.

برای آزمایش مواد به شکل پودر یا مایع بایستی حداقل ده عدد حیوان در گروه آزمایشی تحت آزمون قرار گرفته و پنج حیوان به عنوان گروه شاهد در نظر گرفته شوند. تعداد دیگری از حیوانات باید برای آزمون مقدماتی مورد استفاده قرار گیرند.

یادآوری در صورت لزوم برای مواد حساسیت زای ضعیف ، تعداد حیوانات را باید دو برابر کرد.

7- آماده کردن آزمون

انجام آزمونها و تغییر نتایج آنها بایستی براساس ماهیت وسیله ، میزان تماس ، تناوب ، دوره و شرایط تماس وسایل در انسان صورت گیرد. یکی از قسمتهای اساسی انجام این آزمونها آماده سازی آزمون است .

1-7- پودرها:

پودرها نظیر ابر جاذبها³⁵ باید بطور مستقیم یا از طریق تبدیل نمودن آنها به خمیر با یک مایع مناسب آزمون شوند.

2-7- مایعات :

مایعات یا بطور مستقیم و یا از طریق رقیق شدن در یک حلال مناسب آزمایش شوند، یک شاهد معرف با استفاده از حلال مشابه بایستی به موازات ماده آزمایشی مرطوب شده ، رقیق شده یا تعلیق شده ارزیابی شود.

3-7- جامدات :

1-3-7- مواد جامد که دارای حالت فیزیکی مناسب (نظیر انواع ورق و فیلم) هستند بایستی بدون تغییر آزمایش شوند.

2-3-7- در صورت جامد بودن مواد، نمونه هایی با ابعاد 25×25 میلیمتر با ضخامتی که بیش از 5 میلیمتر نباشد تهیه گردد. شاهد های منفی مناسب را به روش مشابه تهیه کنند.

در مواردی که لازم است از ماده جامد پودر تهیه شود، مراقب باشید که در طی این فرآیند آلودگی ایجاد نشود برای اطمینان از تماس مناسب پودر با بافت می توانید آنرا با مقدار کافی آب یا یک حلال غیر محرک مرطوب نموده و با بافت در تماس قرار دهید بخاطر داشته باشید که در مورد مواد سرامیکی که نیاز به پودر شدن دارند امکان تغییر خواص فیزیکی شیمیایی آنها طی تبدیل به پودر وجود دارد.

شاهد منفی باید از نظر فیزیکی بسیار نزدیک و شبیه به نمونه بوده و تحریک کننده نباشد گاز چهارلا می تواند جایگزین مناسبی برای شاهد منفی باشد.

7-3-3- اگر لازم است که نمونه بصورت‌های رقیق شده ، مرطوب شده یا تعلیق شده باشد، باید از یک حلال غیر محرک مناسب استفاده نمود. حلال‌های مناسب در بند 4 آمده است .

7-3-4- اگر ماده آزمایشی جامد باشد، می توان از آن ماده استخراجی را به ترتیب زیر تهیه کرده و مورد آزمون قرارداد. از محلول‌های قطبی ، غیر قطبی و حلال‌های دیگر بر حسب تناسب استفاده کنید. حلال مورد استفاده در فرآیند استخراج را به عنوان شاهد معرف به موازات ماده استخراجی مورد آزمون قرار دهید.

7-3-4-1- آماده سازی نمونه جهت تهیه ماده استخراجی :

الف - نمونه هایی با شکل هندسی ساده :

سطح نمونه هایی که دارای شکل ساده هندسی هستند را با استفاده از محاسبات ریاضی اندازه گیری کنید. سطح نمونه هایی که دارای خلل و فرج باشند نظیر گاز، مواد بافته شده ، یا مواد اسفنجی با شکل هندسی ساده بایستی نظیر مواد جامد اندازه گیری شوند. اگر ضخامت مواد کمتر از 0/5 میلی متر باشد سطح نمونه باید معادل 120 سانتیمتر مربع باشد و آنرا در 20 میلی لیتر از محلول مورد استفاده برای استخراج قرار دهید. بطوریکه تمام سطح مزبور پوشیده شود.

یادآوری 1- نسبت سطح نمونه به حجم ماده استخراج کننده 6 به 1 می باشد.

اگر ضخامت مواد بیش از 0/5 میلی متر باشد نمونه باید معادل 60 سانتیمتر مربع باشد و آنرا در 20 میلی متر از محلول مورد استفاده برای استخراج قرار دهید بطوریکه تمام سطح مزبور پوشیده شود.

یادآوری 2- نسبت سطح نمونه به حجم ماده استخراج کننده 3 به 1 می باشد.

ب - نمونه هایی با شکل نامنظم :

برای موادی که دارای شکل منظم نبوده و سطح آنرا به آسانی نمی توان مشخص نمود از یک نسبت 2 تا 4 گرم از نمونه به 20 میلی لیتر محلول لازم جهت استخراج استفاده کنید.

کلیه مواد را با تقریب 0/1 گرم وزن کنید.

ج - سایر مواد:

برای موادی که خصوصیات آنها به نوعی است که حجم مایع استخراج کننده نمی تواند سطح یا وزن مورد نیاز از بخشی از نمونه که شاخص کل نمونه باشد، را بپوشاند (به عنوان مثال فومها و اسفنجها) از حداکثر مقدار نمونه که می تواند بوسیله حجم مورد نیاز مایع استخراجی پوشیده شود استفاده کنید. نسبت سطح مورد استفاده به حجم مایع استخراج کننده را مشخص نموده و وزن نمونه را (با تقریب 0/1 گرم) ثبت نمایید. برای ابر جاذبها هیچ روش استاندارد مشخص وجود ندارد و کارکردن با آنها همراه با اشکال است.

د - نمونه های غیرقابل تقسیم به اجزاء مشابه³⁶:

برای موادی که نمی توان آنها را بدون تغییر خصوصیت، ماهیت یا تمامیت به اجزایش تقسیم نمود و برای آن دسته از مواد که حجم مایع محاسبه شده جهت استخراج نمی تواند همه نمونه را بپوشاند (نظیر وسایل پیچیده، وسایل فلزی، قسمت‌های داخلی کیسه ها) از حداقل مایع لازم جهت استخراج که بتواند سطح نمونه را بپوشاند استفاده نمایید. برحسب نوع ماده، وزن (با تقریب 0/1 گرم) و یا سطح پوشیده به منظور تهیه ماده استخراجی را (با تقریب یک سانتیمتر مربع) مشخص نموده و حجم ماده استخراجی را با تقریب 1 میلی لیتر ثبت نمایید.

7-3-4-2- آماده سازی نهایی:

الف - ماده مورد نظر برای تهیه ماده استخراجی را از نظر وجود آلودگی به گرد و غبار یا ذرات بررسی کنید. در صورت وجود آلودگی سطحی مراحل آبکشی و خشک کردن را انجام دهید.

ماده را بوسیله آب خالص یا آب مقطر تزریقی (مطابق با BP یا USP) آبکشی کنید، از نسبت 70 میلی لیتر آب برای هر 60 سانتی متر مربع از سطح ماده استفاده کنید. حداقل به مدت 30 ثانیه آنرا تکان دهید و سپس خالی کنید. در صورت لزوم آبکشی را تکرار نموده و قبل از اجرای مراحل استخراج خشک کنید.

یادآوری - اکثر مواد بصورت سترون و یا کاملاً تمیز بسته بندی می شوند. دستکاری بیش از حد و یا قرارگرفتن در معرض دماهای خشک کننده غالباً مجاز نبوده و در حقیقت این کار ممکن است تأثیر سوء بر نتایج مطالعات داشته باشد. برای موادی که ظاهراً تمیز می باشند حذف شستشو توصیه می شود. این امر اجازه می دهد تا ارزیابی واقعی تری نسبت به مواد و فرآیند تولید داشته باشیم.

ب - پس از محاسبه مقدار مناسب ماده در صورت عملی بودن آنرا به قطعات کوچک تقسیم کنید.

ج - وقتیکه ضخامت ماده از یک میلی لیتر بیشتر است و تقسیم کردن آن عملی نیست برای تعیین مقداری از ماده که بایستی مورد استفاده قرارگیرد، سطوح در معرض تماس با مایع استخراج کننده ، در تمامی قطعات را محاسبه کنید.
3-4-3-7- روش کار:

الف - ماده آزمایشی را در ظرفی با اندازه مناسب قرار دهید. حجم مایع مورد نیاز برای استخراج را با تقریب 1 میلی لیتر با یک پیپت یا وسیله حجمی دیگری برداشته و سطح ماده درون ظرف را بپوشانید ظرف را تکان دهید تا مطمئن شوید که قطعات و قسمت‌های مختلف نمونه با یکدیگر تماس نداشته ، به هم نچسبیده و آزاد باشند.

ب - بر حسب نوع ماده آزمایشی و یا مقتضیات آزمایش ، دما و زمان مناسب را جهت تهیه ماده استخراجی انتخاب کنید.
استخراج در 37 درجه سلسیوس به مدت حداقل 72 ساعت برای اغلب وسایل مناسب است .
زمانهای کوتاهتر در دماهای بالاتر نیز می توانند استفاده شوند. در اینصورت این عمل باید توجیه شده باشد.

دماها و زمانهای جایگزین به ترتیب زیر است :

121 درجه سلسیوس برای $1 \pm 0/2$ ساعت

70 درجه سلسیوس برای 24 ± 2 ساعت

50 درجه سلسیوس برای 72 ± 2 ساعت³⁷

ج - شاهد معرف را بدون ماده آزمایشی در ظروف مربوطه آماده کرده و به روش مشابه ماده استخراجی عمل نمائید (در دما و زمان مشابه)

د - پس از پایان زمان مربوطه ظرف محتوی مایع استخراجی را تکان داده و آن را در ظروف تمیز دیگری خالی کنید. ماده استخراجی را در دمای اتاق نگهداری نموده ظرف 24 ساعت آزمایش کنید. اگر ماده استخراجی بیش از 24 ساعت نگهداری شده باشد در صورتی از آن می توان استفاده کرد که از قابل اعتماد بودن آن اطمینان داشته باشیم .
3-5-7- روش استخراج جایگزین برای آزمون حساسیت زایی مواد پلی مری با استفاده از یک حلال فرار بکار میرود. در این روش پس از تبخیر حلال باقیمانده را روی حیوان آزمایش می کنند.

4-7- محصولات که با اکسیداتیلن سترون می شوند در آزمونهای حساسیت زایی ایجاد اشکال فنی می نمایند زیرا اکسیداتیلن و محصولات حاصل از واکنشهای آن می توانند

سبب بروز پاسخ های بیولوژیک شوند.

هرگونه پاسخ بیولوژیک نامطلوب باید مورد ارزیابی قرارگیرد. برای تفکیک پاسخهای بیولوژیک حاصل از ماده آزمایشی از آن دسته پاسخ هایی که از باقیمانده اکسیداتیلن ایجاد می شوند بایستی وسایل قبل و بعد از فرآیند سترون سازی مورد ارزیابی قرارگیرند.

8 - روش کار

8-1- آماده سازی حیوانات :

روز قبل از آزمون موی تمام سطح مورد نظر برای آزمون را بتراشید. برای تزریق داخل جلدی 0/1 میلی لیتر از آزمون را در هر محل تزریق کنید. در روشهای موضعی ، یک تکه با ابعاد مناسب از کاغذ صافی را با آزمون اشباع نموده ، بر سطح پوست تراشیده شده قرار داده و آنرا توسط یک پوشش دور تا دور بدن حیوان ثابت نمایید.

8-2- آزمون های مقدماتی :

یادآوری - آزمون های مقدماتی به منظور بدست آوردن غلظت مناسبی از آزمون که در آزمون اصلی در (بند 8-3) استفاده می شوند، طراحی شده اند. قبل از انجام آزمون تزریق همیار کامل فروند به همه حیوانات صورت گیرد. برای روش تزریق داخل جلدی دامنه ای از غلظتهای مختلف آزمایه را بصورت داخل جلدی به حداقل دو حیوان تزریق کنید. بالاترین غلظتی که سبب تخریب وسیع پوست نشده باشد و همچنین اثر سوء بر حیوانات نداشته باشد را برای مرحله القأ داخل جلدی انتخاب کنید. دامنه ای از غلظتهای آزمایه را بر ناحیه تهیگاه حداقل سه حیوان دیگر بصورت موضعی قرار دهید. پس از 24 ساعت پوشش و وصله ها را برداشته و محل آزمون را از نظر سرخی و خیز با استفاده از جدول شماره 1 بررسی ، درجه بندی و ارزیابی نمایید.

جدول ۱- درجه بندی واکنشهای پوستی

درجه بندی	واکنش
	- ایجاد سرخی و جوشگاه (اسکار)
۰	بدون سرخی
۱	سرخی مختصر
۲	سرخی واضح
۳	سرخی متوسط
۴	سرخی شدید تا ایجاد مختصری نسج جوشگاه
	- ایجاد خیز
۰	بدون خیز
۱	خیز مختصر
۲	خیز واضح
۳	خیز متوسط
۴	خیز شدید

یادآوری - سایر عوارض نامطلوب در سطح پوست بایستی گزارش و ثبت گردد.
به منظور استاندارد نمودن سیستم درجه بندی روش مرجع تغییر داده شده است.

8-2-1 انتخاب غلظت مناسب :

الف - در صورت امکان برای مرحله القأ موضعی در آزمون اصلی ، بالاترین غلظتی که سبب سرخی مختصر شده باشد ولی اثر سوء بر حیوان نداشته باشد را انتخاب کنید.

ب - برای مرحله مواجهه ثانویه موضعی در آزمون اصلی ، بالاترین غلظتی که سرخی ایجاد نکرده باشد را انتخاب کنید

8-3-3 آزمون اصلی :

8-3-1- مرحله القأ داخل جلدی³⁸:

0/1 میلی لیتر از محلولهای تزریقی زیر را در مناطق تراشیده شده داخل کتفی دو طرف هر حیوان در محل های 1 و 2 و 3 که در شکل 1 نشان داده شده است بصورت داخل جلدی تزریق کنید.

الف - مخلوط حجمی 50 به 50 از همیار کامل فروند با حلال انتخاب شده .

آب مقطر تزریقی یا سالین فیزیولوژیک (مطابق با BP، USP یا معادل آن) برای مواد محلول در آب حلالهای مناسبی می باشند. برای مواد غیر محلول در آب به بند 4(مواد لازم) مراجعه کنید.

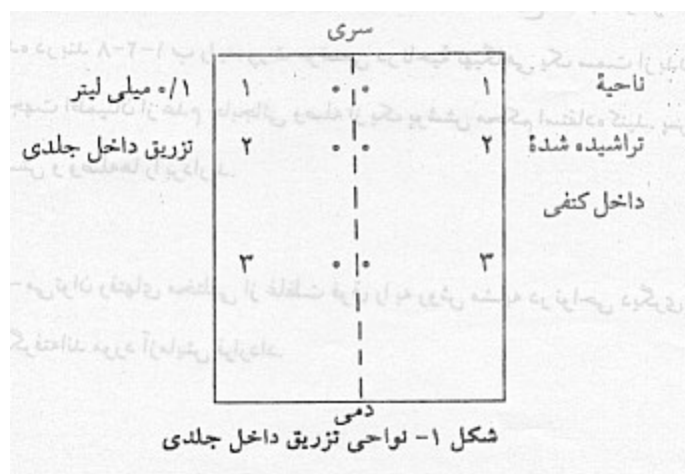
ب - آزمونه تهیه شده از وسایل با غلظت انتخاب شده در آزمونهای مقدماتی .

در مورد حیوانات شاهد فقط از حلال استفاده کنید.

ج - آزمونه تهیه شده از وسایل در غلظت مورد استفاده در بند ب ، بصورت محلول

امولسیونی 50 به 50 حجمی با مخلوطی از ادجوانت کامل فروند و حلال .

در مورد حیوانات شاهد از حلال مخلوط شده یا امولسیونی با همیار استفاده کنید.



8-3-2- مرحله القا موضعی³⁹:

هفت روز پس از تکمیل مرحله القا داخل پوستی ، یک تکه کاغذ صافی به ابعاد 40×20 میلی

متر را با آزمونه تهیه شده از وسایل اشباع نموده و نواحی تزریق داخل جلدی در ناحیه

داخل کتفی را بوسیله آنها بپوشانید. از غلظت انتخاب شده در بند 8-2-1 الف استفاده کنید.

بوسیله یک پوشش مناسب و محکم ناحیه مورد آزمون را بپوشانید. پس از 48±2 ساعت

وصله ها و پوشش مزبور را بردارید.

در مورد حیوانات شاهد بصورت مشابه روش بالا عمل کرده فقط از حلال استفاده کنید.

اگر حداکثر غلظتی که در بند 8-2-1 الف بدست آمده نتوانست تحریک ایجاد نماید محلول

10% سدیم لوریل سولفات در وازلین را 24±2 ساعت قبل از قراردادن وصله های القا

موضعی به ناحیه آزمون بمالید.

در مورد گروههای شاهد نیز بصورت مشابه عمل نمائید.

8-4- مرحله مواجهه ثانویه⁴⁰:

حداقل 14 روز بعد از تکمیل مرحله القا موضعی تمام حیوانات آزمایشی و شاهد را در

معرض مواجهه ثانویه با آزمونه تهیه شده از وسایل قرار دهید. یک وصله اشباع شده با

آزمونه به غلظت انتخاب شده در بند 8-2-1 ب را بصورت موضعی در ناحیه تهیگاهی یک

سمت از بدن هر حیوان قرار دهید. جهت اطمینان از عدم جابجائی وصله از یک پوشش

محکم استفاده کنید. پس از 24±2 ساعت پوشش و وصله ها را بردارید.

یادآوری - می توان رقت‌های مختلفی از غلظت فوق را به روش مشابه در نواحی دیگری که تحت آزمون قرارنگرفته اند مورد آزمایش قرارداد.

9 - مشاهده و بررسی حیوانات

نواحی مورد آزمون در گروه‌های آزمایشی و شاهد را پس از 24، 48 و 72 ساعت مشاهده و بررسی کنید.

میزان سرخی و خیز را در هر یک از محلهای تماس در زمانهای فوق با استفاده از جدول شماره 1 درجه بندی کرده و توضیح دهید.

10 - ارزیابی نتایج

درجات واکنش به میزان 1 یا بالاتر از آن در گروه آزمایشی در شرایطی که در گروه‌های شاهد درجه واکنش کمتر از 1 باشد، عموماً نشان دهنده حساسیت زایی وسایل می باشد. اگر درجه واکنش در حیوانات شاهد 1 یا بالاتر از آن باشد در این صورت واکنشهایی را می توان دلیل بر حساسیت دانست که از بالاترین درجه در گروه شاهد بالاتر باشد. در مواردی ممکن است تعداد حیوانات گروه آزمایشی که به واکنش پاسخ می دهند نسبت به حیوانات گروه شاهد بیشتر باشد هر چند که شدت واکنش شدیدتر از گروه شاهد نمی باشد. در چنین مواردی می توان به منظور مشخص کردن پاسخ واکنش حیوانات را تحت مواجهه مجدد قرارداد. در این صورت این کار را 7 روز پس از اولین مواجهه انجام می دهیم ، روش کار باید مشابه روش اولین مواجهه بوده و از سطح آزمایش نشده در ناحیه تهیگاهی حیوان استفاده کرد.

11 - بیان نتایج

گزارش آزمون باید شامل موارد زیر باشد:

الف - شرح ماده یا وسیله مورد آزمون

ب - منظور استفاده یا کاربرد ماده یا وسیله مورد آزمون

ج - توضیح جزئیات روش کار آماده سازی ماده آزمایشی یا وسیله

د - نوع حیوانات آزمایشی

ه - روش کار

و - نحوه قرائت و ثبت مشاهدات

ز - ارزیابی نتایج آزمون

1-Non-Invasive human Tests

2-Clinical trials

3-Strong Sensitizers

4-Repeated exposure

5-Maximization method (Magnusson & Kligman)

6-Closed patch method (Buchler)

7-Topical administration

8-Freund ' s Complete adjuvant

9-Exposure time

10-Preliminary phase

11-Induction phase

12-Challenge phase

13-Delayed & persistent

14-Hypersensitivity reactions

15-Flank area

16-Borderline reactions

17-Vehicles

18-Open challenge

19-Delayed contact hypersensitivity

20-Exposure

21-Irritation

22-Oedema

23-Erythema

24-Eschar

25-Corrosion

26-Ulceration

27-Necrosis

28-Negative control

29-Positive control

30-Solvent

31-Reagent control

32-Extraction

33-Oleum neutral

34- وسایل برشی را بوسیله یک حلال فرار ارگانیک نظیر الکل یا استون تمیز کنید. از اسیدها برای تمیز کردن وسایل فلزی استفاده نکنید.

35-Super - absorbents

36-Non - subdividable

37-برای انتخاب دمای مناسب می توانید به ISO 10993-12 مراجعه کنید.

38-Intradermal induction phase

39-Topical induction phase

40-Challenge phase



ISLAMIC REPUBLIC OF IRAN

Institute of Standards and Industrial Research of Iran

ISIRI NUMBER

4688



Test for sensitization of medical devices (Maximization Method)

First Edition

