

**TCVN 7391-6 : 2007
ISO 10993-6 : 1994**

Xuất bản lần 1

**ĐÁNH GIÁ SINH HỌC ĐỐI VỚI TRANG THIẾT BỊ Y TẾ –
PHẦN 6: PHÉP THỬ HIỆU ỨNG TẠI CHỖ SAU CẤY GHÉP**

*Biological evaluation of medical devices –
Part 6: Tests for local effects after implantation*

HÀ NỘI – 2007

Lời nói đầu

TCVN 7391-6 : 2007 hoàn toàn tương đương với ISO 10993-6 : 1994.

TCVN 7391-6 : 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

Tiêu chuẩn này đưa ra các phương pháp thử nghiệm sinh học dụng cụ và vật liệu y tế, nha khoa và trang thiết bị y tế, và đánh giá tính tương thích sinh học của chúng.

TCVN 7391 (ISO 10993-1) đưa ra hướng dẫn để lựa chọn các phương pháp thử nghiệm sinh học. Mục đích là để giảm các phép thử trên động vật đến mức tối thiểu [xem TCVN 7391-2 (ISO 10993-2)]. Các tài liệu thử nghiệm trước đây như các số liệu liên quan đến an toàn sinh học của vật liệu là có sẵn để tìm kiếm.

Các phương pháp thử mô tả trong tiêu chuẩn này dựa trên các phép thử cấy ghép được thiết lập. Tiêu chuẩn này mô tả các phép thử trên động vật để nghiên cứu các hiệu ứng tại chỗ sau cấy ghép. Việc sử dụng các kỹ thuật cấy ghép *in vivo* để đặc trưng các phản ứng sinh học của mô với vật liệu cho phép đánh giá các vật liệu mà không đánh giá được bằng các quy trình khác.

Các phương pháp thử này có thể không phù hợp cho tất cả các loại trang thiết bị y tế. Tùy theo vật liệu thử, người sử dụng chú ý lựa chọn phương pháp thử phù hợp cho các vật liệu đang được thử, những ứng dụng tiềm tàng của chúng và các khuyến nghị trong TCVN 7391-1 (ISO 10993-1).

Ban kỹ thuật tiêu chuẩn ISO/TC 194 đánh giá cao bất kỳ thông tin nào để hoàn thiện tiêu chuẩn này.

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

Phần 6: Phép thử hiệu ứng tại chỗ sau cấy ghép

Biological evaluation of medical devices –

Part 6: Test for local effects after implantation

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định phương pháp thử để đánh giá các hiệu ứng tại chỗ của một vật liệu cấy ghép vào mô sống ở cả mức độ đại thể và vi thể.

Mẫu thử được cấy ghép vào một vị trí và mô phù hợp để đánh giá an toàn sinh học của vật liệu. Việc cấy không gây đau đớn hoặc ảnh hưởng chức năng. Đánh giá các hiệu ứng tại chỗ bằng cách so sánh phản ứng mô gây ra do mẫu thử với phản ứng mô gây ra do vật liệu dùng trong trang thiết bị y tế đã được chấp nhận trong lâm sàng.

Phương pháp thử hiệu ứng tại chỗ sau cấy ghép được sử dụng để đánh giá tác động bán mãn tính (thời gian ngắn, đến 12 tuần) hoặc tác động mãn tính (lâu dài, hơn 12 tuần).

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau là rất 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.

3 Điều khoản chung cho các phương pháp thử cấy ghép

3.1 Quy định chung

Tiêu chuẩn này sử dụng các định nghĩa đã nêu trong TCVN 7391-1 (ISO 10993-1) và TCVN 7391-2 (ISO 10993-2).

Các điều khoản trong điều này áp dụng cho các phương pháp thử mô tả trong các điều từ 4 đến 6.

Điều quan trọng là nhà nghiên cứu phải lập kế hoạch nghiên cứu thật chi tiết sao cho có thể rút ra được nhiều thông tin nhất từ việc sử dụng mỗi động vật thử [xem TCVN 7391-2 (ISO 10993-2)].

3.2 Chuẩn bị mẫu để cấy ghép

3.2.1 Mẫu rắn (ngoại trừ mẫu bột)

Các đặc trưng vật lý (như dạng, mật độ, độ cứng, tính chất bề mặt) có thể ảnh hưởng đến đặc tính phản ứng mô với vật liệu thử.

Mỗi vật cấy phải được chế tạo, xử lý, làm sạch chất nhiễm bẩn và tiệt trùng bằng phương pháp dùng cho sản phẩm thành phẩm.

Sau khi chuẩn bị và tiệt trùng lần cuối, mẫu cấy phải được xử lý đảm bảo mẫu không bị xước, hư hỏng hoặc nhiễm khuẩn theo bất kỳ con đường nào trước hoặc trong khi cấy.

3.2.2 Mẫu không rắn (bao gồm mẫu bột)

Mẫu không rắn có thể là chất lỏng, bột nhão và dạng hạt, khác biệt với các vật liệu đề cập trong 3.2.1. Các thành phần có thể được trộn trước khi sử dụng (ví dụ xi măng làm xương, vật liệu hàn răng) và đóng rắn sau những khoảng thời gian khác nhau.

Vật liệu có thể được chứa trong ống để thử nghiệm các hiệu ứng tại chỗ sau cấy ghép. Các ống polyetylen (PE), polypropylen (PP) hoặc polytetrafluoroetylen (PTFE) thường được dùng cho mục đích này.

Trước khi thử, phải rửa ống bằng cồn 70 % (V/V) và nước cất rồi tiệt trùng bằng nồi hấp hoặc các phương pháp khác phù hợp với ứng dụng lâm sàng. Vật liệu thử ở trạng thái mới trộn phải được kiểm tra về độ nhiễm vi sinh vật.

Chuẩn bị vật liệu thử theo hướng dẫn của nhà chế tạo và nạp đầy vật liệu vào ống. Thao tác cẩn thận tránh để vật liệu thử bám lên bề mặt ngoài ống. Loại bỏ không khí trong ống và bảo đảm rằng bề mặt của vật liệu đã nạp vào ống ngang bằng với miệng ống.

CHÚ THÍCH 1 Ống PE có thể bị biến dạng khi chung. Khó tách ống PTFE trong thiết bị vi phẫu, và việc thay thế bằng ống PE hoặc PP có cùng kích thước có thể là thích hợp hơn khi các ống được giữ lại trong khối mô khi tách ống.

3.2.3 Mẫu đối chứng

Cỡ, hình dạng và đặc biệt là điều kiện bề mặt của mẫu đối chứng phải tương tự như mẫu cấy thử có thể ứng dụng trong thực tế. Khi vật liệu thử được đựng trong ống thì mẫu đối chứng có dạng hình que và được làm từ vật liệu tương tự như ống và có cùng đường kính bằng đường kính ngoài của ống. Mẫu đối chứng cũng phải được xử lý, làm sạch và tiệt trùng theo cách tương tự và có đặc trưng đối chứng rõ ràng. Chọn vật liệu đối chứng phải dựa trên việc sử dụng đã xác minh của chúng trong các ứng dụng lâm sàng tương tự với các ứng dụng của vật liệu thử dự kiến và không giới hạn trong các vật liệu đã đề cập trong Phụ lục A và C.1.

3.3 Động vật, mô, giai đoạn thử, phẫu thuật, chăm sóc hậu phẫu, gây chết nhẹ nhàng

3.3.1 Động vật và mô

Chăm sóc động vật phải tuân theo TCVN 7391-2 (ISO 10993-2) và/hoặc các yêu cầu của quy chuẩn quốc gia về động vật phòng thí nghiệm.

Chọn một loài động vật cần xem xét kỹ về cỡ của mẫu thử cấy ghép, khoảng thời gian dự định của phép thử liên quan đến tuổi thọ của động vật, cũng như sự khác nhau về loài đã biết trong phản ứng sinh học ở cả mô cứng và mềm.

Đối với các thử nghiệm ngắn hạn trong mô dưới da và mô cơ, thường dùng các động vật như chuột nhắt, chuột cống trắng, chuột lang và thỏ. Chọn một loài trong số các động vật này.

Đối với các thử nghiệm dài hạn trong mô dưới da, cơ và xương, các động vật như chuột cống trắng, chuột lang, thỏ, chó, cừu, dê, lợn và các động vật khác có tuổi thọ tương đối dài là thích hợp. Chọn một loài trong số các động vật này.

Mẫu thử và vật liệu đối chứng phải được cấy trong cùng điều kiện, cùng loài, cùng tuổi, cùng giới tính và chủng xét về vị trí giải phẫu. Số lượng và cỡ vật cấy trong một động vật phụ thuộc vào cỡ của loài và vị trí giải phẫu.

3.3.2 Giai đoạn thử

Phản ứng mô tại chỗ với các vật liệu cấy ghép được đánh giá trong các phép thử ngắn hạn đến 12 tuần và trong các phép thử dài hạn hơn 12 tuần.

Các giai đoạn thử được chọn lọc để đảm bảo đạt đến trạng thái phản ứng sinh học bền vững. Phản ứng sinh học tại chỗ với vật liệu cấy ghép phụ thuộc vào đặc điểm của vật liệu và tổn thương của phẫu thuật. Hình dạng mô trong vùng kế cận với vật cấy thay đổi theo thời gian sau phẫu thuật. Thông thường, tại các giai đoạn quan sát một tuần, phát hiện thấy hoạt động tế bào cao, tiếp theo một giai đoạn quá độ. Trong mô cơ và mô nối, quan sát thấy trạng thái ổn định trong quần thể tế bào sau 9 đến 12 tuần tùy theo loài. Cấy ghép trong mô xương có thể cần giai đoạn quan sát dài hơn.

TCVN 7391-6 : 2007

Các giai đoạn thử phải được lựa chọn từ các giai đoạn quy định trong Bảng 1 đối với cấy ghép ngắn hạn hoặc từ Bảng 2 đối với cấy ghép dài hạn.

Bảng 1 - Chọn giai đoạn thử cho cấy ghép ngắn hạn trong mô dưới da và cơ

Loài	Giai đoạn cấy ghép tuần				
	1	3	4	9	12
Chuột nhắt	x	x		x	
Chuột cống trắng	x		x		x
Chuột lang	x		x		x
Thỏ	x		x		x

Bảng 2 - Chọn giai đoạn thử cho cấy ghép dài hạn trong mô dưới da, cơ và xương

Loài	Giai đoạn cấy ghép tuần				
	12	26	52	78	(104)
Chuột cống trắng	x	x	x		
Chuột lang	x	x	x		
Thỏ	x	x	x	x	
Chó	x	x	x	x	x
Cừu	x	x	x	x	x
Dê	x	x	x	x	x
Lợn	x	x	x	x	x

Phụ thuộc vào sự sử dụng vật liệu thử, có thể không cần thực hiện tất cả các giai đoạn cấy ghép [xem TCVN 7391-1 (ISO 10993-1)]. Giai đoạn quan sát 104 tuần phải được lưu ý trong các ví dụ đã chọn.

Số lượng vật cấy trên một động vật và số lượng động vật trong một chu kỳ quan sát được mô tả trong các điều từ 4 đến 6. Số lượng các vật cấy phải nạp vào đủ để đảm bảo số lượng cuối cùng của mẫu được đánh giá sẽ cho kết quả có giá trị.

3.3.3 Phẫu thuật

Gây tê động vật. Loại bỏ lông khỏi vùng phẫu thuật bằng cách xén, cạo hoặc các cách khác. Rửa vùng da đó bằng dung dịch tiệt trùng. Bảo đảm rằng lông không tiếp xúc với các vật cấy hoặc bề mặt vết thương. Quy trình cấy ghép cụ thể hoặc cấy ghép được mô tả trong các điều từ 4 đến 6.

Kỹ thuật phẫu thuật có thể ảnh hưởng đáng kể đến kết quả của mọi quy trình cấy ghép. Phẫu thuật phải được tiến hành trong điều kiện vô trùng và theo cách giảm thiểu tổn thương tại vị trí cấy ghép.

Sau khi phẫu thuật, đóng vết thương bằng kẹp hoặc chỉ khâu, duy trì điều kiện vô trùng.

3.3.4 Đánh giá sau phẫu thuật

Quan sát từng con vật theo các khoảng thích hợp trong giai đoạn thử và ghi lại mọi phát hiện bất thường, bao gồm các bất thường tại chỗ, hệ thống và về hành vi.

3.3.5 Gây chết nhẹ nhàng

Vào cuối giai đoạn thử nghiệm, làm động vật chết nhẹ nhàng bằng thuốc mê quá liều hoặc bằng một số phương pháp không gây đau khác đã được chấp nhận [xem TCVN 7391-2 (ISO 10993-2)].

3.4 Đánh giá phản ứng sinh học

Đánh giá phản ứng sinh học thay đổi theo thời gian bằng cách phân loại và ghi chép nhận xét các phản ứng thử đại thể và mô bệnh học. So sánh các phản ứng với vật liệu thử và vật liệu đối chứng.

Tiến hành so sánh vật cấy đối chứng và vật cấy thử ở các vị trí tương đương với mỗi vật cấy sao cho tác động của sự di chuyển tương đối giữa mô và vật cấy là nhỏ nhất (xem Chú thích 2).

CHÚ THÍCH 2 Đối với một mẫu hình trụ vùng đánh giá là giữa các đầu. Đối với các vật cấy hình trụ có khía thì các phần trung tâm giữa các khía cũng như bề mặt cuối phẳng của vật cấy là phù hợp để đánh giá.

Đối với một vật liệu không rắn hoặc chất hạt nằm trong ống thì chỉ có vùng cuối của ống là có giá trị để đánh giá.

3.4.1 Đánh giá đại thể

Dùng kính hiển vi có độ phóng đại thấp để kiểm tra từng vị trí cấy ghép. Ghi lại bản chất và phạm vi của bất kỳ phản ứng mô đã quan sát.

3.4.2 Chuẩn bị mô học – Thu hồi vật cấy và chuẩn bị mẫu

Vật cấy cùng với mô bao quanh được cắt đủ để có thể đánh giá phản ứng sinh học tại chỗ. Xử lý khối mô đã cắt gồm vật cấy thử hoặc vật cấy đối chứng phù hợp cho nghiên cứu mô bệnh học và các nghiên cứu thích hợp khác.

TCVN 7391-6 : 2007

Khi dùng các kỹ thuật thông thường, có thể mở bao mô trước hoặc sau khi tiếp xúc với thuốc hãm và phải ghi lại điều kiện của bề mặt vật cấy và lớp mô. Tuy nhiên, với kỹ thuật này tầng mô gắn với vật cấy nhất thường bị phá huỷ.

Khi nghiên cứu mặt tiếp xúc vật cấy/mô, nên vùi mô bao quanh cùng với vật cấy *in situ* bằng chất dẻo cứng. Dùng kỹ thuật cắt hoặc mài thích hợp để chuẩn bị tách các lát cắt mô. Phải chứng minh được rằng kỹ thuật gắn vào chất dẻo không làm thay đổi đáng kể mô tại mặt tiếp xúc.

3.4.3 Đánh giá mô học

Có thể xác định phạm vi phản ứng bằng cách đo khoảng cách từ mặt tiếp xúc vật cấy/mô đến các vùng không bị ảnh hưởng với các đặc điểm của mô bình thường và tình trạng có mạch thông thường. Ghi lại hướng của lát cắt liên quan đến kích thước vật cấy. Ghi lại hướng vật cấy, số lượng các lát cắt và hình dạng của lát cắt.

Các thông số phản ứng sinh học được đánh giá và ghi lại bao gồm:

- a) chiều dày của bao xơ và sự lan toả chứng viêm;
- b) sự thoái hoá được xác định bởi các thay đổi trong hình thái mô;
- c) số lượng và sự phân bố biến thiên theo khoảng cách từ mặt tiếp xúc vật liệu/mô của các loại tế bào viêm, cụ thể là bạch cầu nhân đa hình, tế bào lympho, tế bào huyết tương, tế bào ưa eosin, đại thực bào và tế bào đa nhân;
- d) tình trạng hoại tử biểu hiện bởi nhân tan và/hoặc vỡ mao mạch;
- e) các thông số khác như mảnh vụn vật liệu, thâm nhiễm chất béo, u hạt;
- f) đối với các vật liệu xốp, chất lượng và số lượng mọc trong mô.

Trong trường hợp xương, mặt tiếp xúc giữa mô và vật liệu được quan tâm đặc biệt. Đánh giá vùng tiếp xúc của xương và lượng xương gắn vật cấy cũng như sự có mặt của mô không bị vôi hoá xen vào. Chú ý sự tiêu xương và tạo xương.

3.5 Báo cáo thử nghiệm

3.5.1 Nội dung của báo cáo thử nghiệm

Báo cáo thử nghiệm phải có đủ chi tiết để đánh giá độc lập kết quả. Báo cáo phải bao gồm các điều liệt kê từ 3.5.2 đến 3.5.6.

3.5.2 Mẫu vật cấy

Mô tả vật liệu thử và đối chứng, điều kiện vật liệu, cách chế tạo, điều kiện bề mặt, hình dạng và cỡ của vật cấy.

Báo cáo cơ sở để chọn vật liệu đối chứng.

Chuẩn bị bề mặt mẫu có thể tác động đến phản ứng mô. Chính vì vậy, quy trình chuẩn bị phải được ghi trong báo cáo.

Báo cáo về kỹ thuật làm sạch, xử lý và tiệt trùng đã áp dụng. Nếu các quá trình này không được tiến hành trong phòng, thì nhà chế tạo phải cung cấp thông tin này trước khi bắt đầu nghiên cứu.

3.5.3 Động vật và cấy ghép

Báo cáo nguồn gốc, tuổi, giới tính và chủng loại động vật. Báo cáo các điều kiện nuôi dưỡng và khối lượng của động vật trong giai đoạn nghiên cứu. Sức khỏe của động vật phải được đánh giá trong khi nghiên cứu. Tất cả các quan sát, bao gồm cả chết ngoài ý muốn phải được báo cáo.

Báo cáo các kỹ thuật cấy ghép. Báo cáo số lượng vật cấy ghép vào mỗi động vật, trên mỗi vị trí và trong mỗi giai đoạn quan sát.

3.5.4 Quy trình thu hồi và mô học

Báo cáo phải bao gồm mô tả kỹ thuật thu hồi. Ghi lại số lượng vật cấy được thu hồi từ mỗi động vật và trong mỗi giai đoạn quan sát. Tất cả các mẫu phải được giải trình và xem như một phần của phép thử. Phải mô tả kỹ thuật dùng để cố định và chuẩn bị các lát cắt mô.

3.5.5 Đánh giá

Quan sát đại thể phải bao gồm các quan sát trên mỗi vật cấy cũng như hình dáng đại thể của mô xung quanh vật cấy. Báo cáo phải bao gồm các kết quả nhận được từ mỗi thí nghiệm mô học.

3.5.6 Đánh giá cuối cùng

Báo cáo phải bao gồm một đánh giá so sánh các phản ứng sinh học với vật liệu thử và đối chứng cũng như mô tả tường thuật phản ứng sinh học.

4 Phương pháp thử đối với cấy ghép trong mô dưới da

4.1 Lĩnh vực ứng dụng

Phương pháp thử này được dùng để đánh giá phản ứng sinh học của mô dưới da với một vật liệu cấy ghép.

Nghiên cứu có thể sử dụng để so sánh tác động của các kết cấu bề mặt khác nhau hoặc các điều kiện của cùng vật liệu, hoặc để đánh giá tác động của các xử lý khác nhau hoặc các biến thể của một vật liệu.

4.2 Nguyên tắc

Đặt vật cấy vào mô dưới da của động vật thử. Phương pháp so sánh phản ứng sinh học của mẫu cấy thử với phản ứng sinh học của mẫu cấy đối chứng làm bằng vật liệu được thiết lập để sử dụng trong lâm sàng (xem 3.2.3).

4.3 Mẫu thử

Các điều khoản chung để chuẩn bị mẫu thử và mẫu đối chứng được mô tả trong 3.2. Cỡ vật cấy phải dựa trên cỡ động vật thử.

4.3.1 Mẫu làm bằng vật liệu dạng tấm phải có đường kính từ 10 mm đến 12 mm và chiều dày từ 0,3 mm đến 1 mm.

CHÚ THÍCH 3 Vị trí dưới da, vùng cơ ở mô mỡ hạ bì là đặc biệt phù hợp cho đánh giá vật liệu tấm polyme. Tại một vị trí trong cơ, vật liệu tấm có thể bị gấp, gây khó khăn cho việc đánh giá tác động của vật liệu thực chất.

4.3.2 Vật liệu khối phải được làm thành các mẫu có đường kính 1,5 mm và chiều dài 5 mm có các đầu nhánh tỏa ra.

4.3.3 Các mẫu bị xẻ rãnh phải có đường kính 4 mm và chiều dài 7 mm (xem Phụ lục B).

CHÚ THÍCH 4 Mô mọc vào rãnh giảm thiểu kích thích mô do có sự di chuyển của mặt tiếp xúc.

4.3.4 Các mẫu không rắn (bao gồm mẫu bột) phải được chuẩn bị trong ống có đường kính 1,5 mm và chiều dài 5 mm (xem 3.2.2).

4.4 Động vật thử và vị trí vật cấy

Vật cấy phải được đặt vào mô dưới da lưng của chuột nhắt, chuột cống trắng, chuột lang hoặc thỏ. Chọn một loài trong số các động vật này.

Sử dụng ít nhất ba động vật và đủ vị trí để tạo ra 10 mẫu cho mỗi vật liệu và giai đoạn cấy ghép.

4.5 Quy trình cấy ghép

Chọn một trong số các quy trình mô tả trong 4.5.1 và 4.5.2.

4.5.1 Cấy dọc theo đường giữa lưng

Rạch da và tạo một hoặc một số túi dưới da bằng cách dùng lưỡi dao mổ. Nền túi phải lớn hơn 10 mm từ đường rạch. Đặt một vật cấy trong mỗi túi. Các vật cấy không được chạm vào nhau.

CHÚ THÍCH 5 Luân phiên, có thể dùng kim có nòng đưa vật liệu đến vị trí yêu cầu.

4.5.2 Cấy ghép ở cổ

Ở chuột nhắt, cắt một đường dài 10 mm trên xương cụt và chuẩn bị một đường hầm dưới da về phía cổ bằng lưỡi dao mổ. Đẩy một vật cấy (về thiết kế xem Phụ lục B) qua đường hầm để định vị vật cấy ở cổ.

Ở chuột cống trắng, nạp một vật cấy của mỗi vật liệu dự định và đối chứng tách biệt trên mỗi cạnh của cổ. Các vật cấy không được chạm vào nhau.

Cách xa vật cấy, đóng đường hầm bằng các mũi khâu của vật liệu chỉ khâu thích hợp để ngăn cản vật cấy khỏi di chuyển.

4.6 Giai đoạn cấy ghép

Để đảm bảo trạng thái bền vững của phản ứng mô sinh học, các giai đoạn cấy ghép phải như quy định trong 3.3.2.

4.7 Đánh giá phản ứng sinh học

Việc đánh giá phải tiến hành theo quy định trong 3.4.

4.8 Trình bày báo cáo thử nghiệm

Trình bày các kết quả thử và báo cáo thử cuối cùng phải bao gồm các nội dung đã quy định trong 3.5.

5 Phương pháp thử đối với cấy ghép trong cơ

5.1 Lĩnh vực ứng dụng

Phương pháp thử này được dùng đánh giá phản ứng sinh học của mô cơ với một vật liệu cấy ghép.

5.2 Nguyên tắc

Đặt vật cấy vào cơ của một động vật thử. Phương pháp này so sánh phản ứng sinh học của mẫu cấy thử với phản ứng sinh học của mẫu cấy đối chứng làm từ vật liệu được thiết lập để sử dụng trong lâm sàng (xem 3.2.3).

5.3 Mẫu thử

Các điều khoản chung để chuẩn bị mẫu thử và mẫu đối chứng được mô tả trong 3.2. Cơ vật cấy dựa trên cỡ của nhóm cơ đã chọn.

Đối với cơ bên cột sống thỏ, sử dụng vật cấy có chiều rộng từ 1 mm đến 3 mm và chiều dài xấp xỉ 10 mm.

Mẫu phải có bờ tròn và hai đầu mẫu tròn đầy đặn.

5.4 Động vật thử và vị trí vật cấy

Đặt vật cấy vào mô cơ của thỏ hoặc các động vật khác. Bảo đảm cơ đủ cỡ để điều tiết mẫu cấy. Chỉ sử dụng một loài động vật trong một phép thử.

CHÚ THÍCH 6 Các cơ bên cột sống của thỏ là vị trí cấy ghép thích hợp. Luân phiên, có thể dùng cơ mông của chuột cống trắng hoặc cơ hông của thỏ.

Sử dụng ít nhất ba động vật và đủ vị trí cấy ghép để tạo ra tám mẫu thử và tám mẫu đối chứng cho mỗi giai đoạn cấy ghép.

Trong trường hợp khi vật liệu đối chứng cần gây ra nhiều hơn một phản ứng tối thiểu, thì sử dụng hai mẫu đối chứng. Cấy thêm hai mẫu đối chứng làm bằng vật liệu được biết là gây ra một phản ứng mô tối thiểu tại một vị trí đối diện với vật liệu thử.

5.5 Quy trình cấy ghép

Cấy ghép bằng kim tiêm hoặc kim có nòng dưới da. Đối với các vật cấy lớn hơn có thể dùng các kỹ thuật cấy phẫu thuật thích hợp khác.

Mẫu thử cấy vào thân cơ có trục dài song song với sợi cơ.

Đối với cơ bên cột sống thỏ, cấy bốn mẫu của vật liệu thử dọc theo một mặt của xương sống, 25 mm đến 50 mm từ đường giữa và song song với cột sống và cách nhau khoảng 25 mm. Tương tự, cấy bốn mẫu của vật liệu đối chứng trong khối cơ bên kia của mỗi động vật.

5.6 Giai đoạn cấy ghép

Để đảm bảo trạng thái bền vững của phản ứng mô sinh học các giai đoạn cấy ghép phải như quy định trong 3.3.2.

5.7 Đánh giá phản ứng sinh học

Việc đánh giá phải tiến hành theo quy định trong 3.4.

5.8 Trình bày báo cáo thử nghiệm

Trình bày kết quả thử và báo cáo cuối cùng phải bao gồm các nội dung quy định trong 3.5.

6 Phương pháp thử đối với cấy ghép trong xương

6.1 Lĩnh vực ứng dụng

Phương pháp thử này dùng để đánh giá phản ứng sinh học của mô xương đối với vật liệu cấy ghép.

Nghiên cứu có thể dùng để so sánh tác động của các kết cấu bề mặt khác nhau hoặc các điều kiện của cùng vật liệu, hoặc để đánh giá tác động của các cách xử lý khác nhau hoặc các biến thể của một vật liệu.

6.2 Nguyên tắc

Đặt vật cấy vào mô xương của động vật thử. Phương pháp này so sánh phản ứng sinh học của các mẫu cấy thử với phản ứng sinh học của các mẫu cấy đối chứng làm bằng các vật liệu được thiết lập để sử dụng trong lâm sàng (xem 3.2.3).

6.3 Mẫu thử

Các điều khoản chung để chuẩn bị mẫu thử và mẫu đối chứng được mô tả trong 3.2.

6.3.1 Hình dạng mẫu vật cấy

Mẫu có thể có dạng đinh vít hoặc ren xoắn để tạo độ bền vững ban đầu của vật cấy trong xương. Nếu không tạo được dạng đinh vít, thì có thể dùng dạng hình trụ.

6.3.2 Cỡ mẫu thử

Cỡ vật cấy dựa trên cỡ của vật liệu thử và xương đã chọn. Phải lựa chọn các kích thước như sau:

- a) thỏ: vật cấy hình trụ đường kính 2 mm và chiều dài 6 mm;
- b) chó, cừu và dê: vật cấy hình trụ đường kính 4 mm và chiều dài 12 mm;
- c) thỏ, chó, cừu, dê và lợn: vật cấy loại đinh vít xương chính hình từ 2 mm đến 4,5 mm.

6.4 Động vật thử và vị trí cấy ghép

6.4.1 Động vật thử

Vật cấy phải được ghép vào xương của chó, cừu, dê, lợn hoặc thỏ. Chọn một loài trong số các loài này. Sự khác nhau về loài là điều quan trọng trong sinh lý học xương, và phải được đánh giá trước khi bắt đầu quy trình cấy ghép.

Sử dụng ít nhất là bốn con thỏ, hoặc ít nhất là hai trong số mỗi loài động vật khác cho mỗi giai đoạn cấy ghép.

6.4.2 Vị trí cấy ghép

Phải cấy ghép mẫu thử và mẫu đối chứng ở vị trí tương đương nhau. Vật cấy thử phải đối bên với vật cấy đối chứng. Chọn vị trí cấy ghép để giảm rủi ro do di chuyển vật cấy.

CHÚ THÍCH 7 Xương đùi và xương ống là phù hợp. Có thể xem xét các vị trí khác.

TCVN 7391-6 : 2007

Số lượng vị trí cấy ghép phải như sau:

- a) trong mỗi con thỏ, có tối đa sáu vị trí cấy ghép: ba vị trí cho mẫu thử và ba vị trí cho mẫu đối chứng;
- b) trong mỗi con chó, cừu, dê hoặc lợn, phải có tối đa 12 vị trí cấy ghép: sáu vị trí cho mẫu thử và sáu vị trí cho mẫu đối chứng. Không cấy nhiều hơn 12 mẫu trong một động vật.

Cỡ, khối lượng và tuổi của động vật và vị trí cấy ghép đã chọn phải đảm bảo việc đặt vật cấy không gây ra rủi ro đáng kể về nứt gãy bệnh lý tại vị trí thử. Ở các động vật còn non, phải đặc biệt chú ý để đảm bảo các vật cấy tránh được vùng đầu xương hoặc vùng xương non khác.

6.5 Quy trình cấy ghép

Tiến hành chuẩn bị xương bằng cách khoan từ từ và không liên tục, đồng thời tưới nhiều dung dịch muối sinh lý và hút, vì nhiệt độ cao sẽ làm cho mô hoại tử tại chỗ.

Điều quan trọng là đường kính của vật cấy và lỗ khoan trong xương phải khớp nhau để tránh mô xơ xâm nhập xen giữa.

Để lộ vỏ của mỗi xương đùi hoặc xương ống và khoan số lượng các lỗ thích hợp để chứa các vật cấy. Đối với thỏ, chuẩn bị ba lỗ; với các động vật lớn hơn chuẩn bị sáu lỗ. Khoan rộng đến đường kính cuối cùng hoặc tháo sợi hình vít trước khi nạp vào. Nạp vật cấy hình trụ vào bằng áp lực nhấn của ngón tay. Siết chặt vật cấy có hình đinh vít bằng một thiết bị có thể truyền mômen quay định trước. Ghi lại trị số mômen này.

6.6 Giai đoạn cấy ghép

Để đảm bảo trạng thái bền vững của phản ứng mô sinh học, các giai đoạn cấy ghép phải tiến hành như quy định trong 3.3.2.

6.7 Đánh giá phản ứng sinh học

Việc đánh giá phải tiến hành theo quy định trong 3.4.

6.8 Trình bày báo cáo thử nghiệm

Trình bày kết quả thử và báo cáo thử cuối cùng phải bao gồm các nội dung quy định trong 3.5.

Phụ lục A

(tham khảo)

Vật liệu đối chứng

A.1 Phản ứng

Phản ứng sinh học với những vật liệu này không được xác định là không có phản ứng, nhưng đôi khi phản ứng này được dùng như một chuẩn cho một phản ứng với vật liệu khác được so sánh.

Vì hiện tại không có vật liệu đối chứng dạng xốp, nên có thể chấp nhận sử dụng một vật liệu đối chứng dạng đặc để so sánh.

Nếu muốn có vật liệu đối chứng phù hợp nhất để tạo ra một phản ứng mô lớn hơn phản ứng quan sát được với vật liệu đối chứng trích dẫn trong phụ lục này, thì mẫu vật liệu đối chứng đó có thể được cấy như đối chứng để kiểm tra kỹ thuật phẫu thuật.

A.2 Vật liệu đối chứng kim loại

Thép không gỉ, các hợp kim coban-crom, titan và hợp kim titan khác được dùng để chế tạo mẫu đối chứng. Phản ứng sinh học với các vật liệu này được đặc trưng rõ ràng bởi sử dụng rộng rãi trong nghiên cứu và thực tiễn lâm sàng. Xem thông tin kỹ hơn trong ISO 5832, từ phần 1 đến 8 được liệt kê trong Phụ lục C ([1] đến [8]).

A.3 Vật liệu đối chứng polyme và gốm

Thông tin về vật liệu đối chứng phi kim loại được nêu trong [9], [10] và [11].

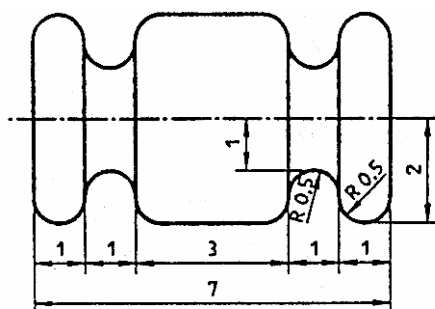
Phụ lục B

(tham khảo)

Mẫu hình trụ

Một ví dụ về hình dạng và kích thước của một mẫu hình trụ để cấy vào chuột nhắt được đưa ra trong Hình B.1.

Kích thước tính bằng milimét



Hình B.1 - Khối trụ đặc biệt có khía

Phụ lục C

(tham khảo)

Thư mục tài liệu tham khảo

C.1 Vật liệu đối chứng

- [1] TCVN 6795-1 : 2001 (ISO 5832-1:1987) *Vật cấy ghép trong phẫu thuật – Vật liệu kim loại – Phần 1: Thép không gỉ gia công áp lực*.
- [2] ISO 5832-2:1993, Implants for surgery – Metallic materials – Part 2: Unalloyed titanium (*Vật cấy ghép trong phẫu thuật – Vật liệu kim loại – Phần 2: Titan nguyên chất*).
- [3] ISO 5832-3:1990, Implants for surgery – Metallic materials – Part 3: Wrought titanium 6-aluminium 4-vanadium alloy (*Vật cấy ghép trong phẫu thuật – Vật liệu kim loại – Phần 3: Hợp kim rèn vanadi 4 nhôm 6 titan*).
- [4] ISO 5832-4:1978, Implants for surgery – Metallic materials – Part 4: Cobalt-chromium-molybdenum casting alloy (*Vật cấy ghép trong phẫu thuật – Vật liệu kim loại – Phần 4: Hợp kim đúc coban – crôm – molybden*).
- [5] ISO 5832-5:1993, Implants for surgery – Metallic materials – Part 5: Wrought cobalt-chromium-tungsten-nickel alloy (*Vật cấy ghép trong phẫu thuật – Vật liệu kim loại – Phần 5: Hợp kim rèn coban – crôm – vonfram – niken*).
- [6] ISO 5832-6:1980, Implants for surgery – Metallic materials – Part 6: Wrought cobalt-nickel-chromium-molybdenum alloy (*Vật cấy ghép trong phẫu thuật – Vật liệu kim loại – Phần 6: Hợp kim rèn coban – niken – crôm – molybden*).
- [7] ISO 5832-7:1994, Implants for surgery – Metallic materials – Part 7: Forgeable and cold-formed cobalt-chromium-nickel-molybdenum-iron alloy (*Vật cấy ghép trong phẫu thuật – Vật liệu kim loại – Phần 7: Hợp kim có thể rèn và tạo hình nguội coban – crôm – niken – molybden – sắt*).
- [8] ISO 5832-8:1987, Implants for surgery – Metallic materials – Part 8: Wrought cobalt-nickel-chromium- molybdenum-tungsten-iron alloy (*Vật cấy ghép trong phẫu thuật – Vật liệu kim loại – Phần 8: Hợp kim rèn coban – niken – crôm – molybden – vonfram – sắt*).
- [9] ISO 5834-2:1985, Ultrahigh molecular weight polyethylene – Part 2: Moulded forms (*Vật cấy ghép trong phẫu thuật – Polyetylen phân tử lượng siêu cao – Phần 2: Tạo hình bằng đúc*).

- [10] ISO 6974 :1994, Implants for surgery – Ceramic materials based on high purity alumina (*Vật cấy ghép trong phẫu thuật – Vật liệu gốm nhôm oxit có độ tinh khiết cao*).
- [11] BS 5736-2 PRS:1986, Positive control plastic reference standard for implantation (*Chuẩn đối chứng của chất dẻo đối chứng dương tính cho cấy ghép*).

C.2 Tiêu chuẩn quốc gia

- [12] ASTM F 748, Practice for Selecting Generic Biological Test Methods for Materials and Devices (*Thực hành lựa chọn phương pháp thử sinh học di truyền đối với vật liệu và trang thiết bị*).
- [13] ASTM F 763, Practice for Short-Term Screening of Implant Materials (*Thực hành sàng lọc ngắn hạn vật liệu cấy ghép*).
- [14] ASTM F 981, Practice for Assessment of Compatibility of Biomaterials for Surgical Implants with Respect to Effect of Materials on Muscle and Bone (*Thực hành đánh giá khả năng tương thích của vật liệu sinh học cho vật cấy phẫu thuật với sự chú ý đến tác động của vật liệu trên cơ và xương*).
- [15] NF S 90-703:1989, Matériel médico-chirurgical – Implants chirurgicaux – Essais de tolérance d'un biomatériau destiné à entrer en contact avec les tissus musculaires et osseux: implantations à court terme et à long terme.
- [16] UNI 9582-3:1990, Biocompatibility of Medical Materials and Devices – Bone Implant Test (*Tương thích sinh học của vật liệu và trang thiết bị y tế – Phép thử cấy xương*).
- [17] Dược điển Hoa Kỳ XXII : 1990, Biological reactivity tests, In-Vivo (*Phép thử phản ứng sinh học, In-Vivo*).

C.3 Tài liệu bổ sung

- [18] Cohen, J. Assay of Foreign-Body (*Khảo nghiệm phản ứng vật lạ*), Journal of Bone and Joint Surgery, 41 A. pp. 152-166 (1959).
- [19] Ferguson, AB. Jr., Laing, PG. And Hodge, ES. The Ionization of Metal Implants in Living Tissues (*Sự ion hoá vật cấy kim loại trong mô sống*), Journal of Bone and Joint Surgery, 42A. pp. 77-90, 1960.
- [20] Geret, V., Rahn BA., Mathys, R., Straumann F. and Perren, SM. In vivo Testing of Tissue Tolerance of Implant Materials: Improved Quantitative Evaluation through Reduction of Relative Motion at the Implant Tissue Interface (*Thử nghiệm in vivo sự chịu đựng của vật liệu cấy ghép: Nâng cao chất lượng đánh giá thông qua sự giảm bớt chuyển động tương đối tại bề mặt phân giới*

vật cấy), From Current Concepts of Internal Fixation of Fracture. HK Uthhoff (ed). Springer Verlag, 1980.

- [21] Geret, V., Rahn BA., Mathys, R., Straumann F. and Perren, SM. Chapter 35: A method for Testing Tissue Tolerance for Improved Quantitative Evaluation Through Reduction of Relative Motion at the Implan-Tissue Interface (*Chương 35: Phương pháp thử nghiệm sự chịu đựng của mô để nâng cao chất lượng đánh giá thông qua sự giảm bớt chuyển động tương đối tại bề mặt phân giới vật cấy*). Evaluation of Biomaterials, GD. Winter, JL. Leray, K. de Groot (eds). John Wilay & Sons Ltd., 1980.
- [22] Kaminski, E.J., Oglesby, R.J., Wood, NK. and Sandrik, J. The Behavior of Biological Materials at Different Sites of Implantation (*Thể hiện của vật liệu sinh học tại các vị trí khác nhau trong cấy ghép*). Journal of Biomedical Material Research, 2, pp. 81-88, 1968.
- [23] Laing, PG., Ferguson, AB. Jr. and Hodge, ES. Tissue Reaction in Rabbit Muscle Exposed to Metallic Implants (*Phản ứng mô trên cơ của thỏ tiếp xúc với vật cấy kim loại*). Journal of Biomedical Materials Research, 1, pp. 135-149, 1967.
- [24] Langeland, K., Guttuso, J., Langeland, LL., and Tobon, G. Methods in the study of biological response to endodontic materials (*Các phương pháp trong nghiên cứu đáp ứng sinh học của vật liệu nội nha*). Tissue response to N2 (root canal sealer), Oral Surg, 27, p. 522, 1969.
- [25] Pizzoferrato, S., Savarino, L., Stea, S., and Tarabusi, C. Result of Histological Grading on 100 cases of Hip Prosthesis Failure (*Kết quả phân loại mô học trong 100 trường hợp thất bại lắp ghép bộ phận giả ở hông*). Biomaterials, 9, pp. 314-318, 1988.
- [26] Rahn, BA., Geret, V., Capaul, C., Lardi, M. and Solothurnmann, B. Morphometric Evaluation of Tissue Reaction to Implants Using Low Cost Digitizing Technique (*Đánh giá hình thái của phản ứng mô đến các vật cấy có sử dụng kỹ thuật số chi phí thấp*). Clinical applications of biomaterials, AJC. Lee, T. Albrektsson and P.-I. Branemark (eds). John Wiley & Sons Ltd., 1982
- [27] Torneck, CD. Reaction of Rat Connective Tissue to Polyethylene Tube Implants. Oral Surg. (*Phản ứng của mô liên kết chuột với các vật cấy polyetylen dạng ống*). Oral Surg. 21, p. 379, 1966.
- [28] Torneck, CD. Reaction of Rat Connective Tissue to Polyethylene Implants (*Phản ứng của mô liên kết chuột với các cấy ghép polyetylen*). Oral Surg. 24, p. 674, 1967.
- [29] Turner, E., Lawrence, WH and Autian, J. Sub-acute Toxicity Testing of Biomaterials Using Histological Evaluation of Rabbit Muscle Tissue (*Thử nghiệm độc tính cấp của vật liệu sinh học sử dụng đánh giá mô học của mô cơ thỏ*). Journal of Biomedical Materials Research, 7, pp. 39-58, 1973.