

TCVN

TIÊU CHUẨN QUỐC GIA

TCVN 7391-3:2020

ISO 10993-3:2014

Xuất bản lần 2

**ĐÁNH GIÁ SINH HỌC TRANG THIẾT BỊ Y TẾ –
PHẦN 3: PHÉP THỬ ĐỘC TÍNH DI TRUYỀN, KHẢ NĂNG
GÂY UNG THƯ VÀ ĐỘC TÍNH SINH SẢN**

Biological evaluation of medical devices –

Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity

HÀ NỘI - 2020

Mục lục

	Trang
Lời nói đầu	4
Lời giới thiệu.....	6
1 Phạm vi áp dụng	7
2 Tài liệu viện dẫn	7
3 Thuật ngữ và định nghĩa.....	8
4 Yêu cầu đối với kế hoạch thử nghiệm	9
5 Phép thử độc tính di truyền.....	11
6 Phép thử khả năng gây ung thư.....	15
7 Phép thử độc tính sinh sản và phát triển	19
8 Báo cáo thử nghiệm	21
Phụ lục A (tham khảo) Hướng dẫn chọn quy trình chuẩn bị mẫu thích hợp trong thử nghiệm độc tính di truyền	22
Phụ lục B (tham khảo) Lưu đồ để đánh giá theo dõi	33
Phụ lục C (tham khảo) Cơ sở của hệ thống thử nghiệm.....	34
Phụ lục D (tham khảo) Hệ thống thử nghiệm biến đổi tế bào	36
Phụ lục E (quy định) Xem xét các nghiên cứu khả năng gây ung thư được thực hiện như các nghiên cứu cấy ghép	38
Phụ lục F (tham khảo) Phép thử in vitro cho độc tính phôi	40
Thư mục tài liệu tham khảo	42

TCVN 7391-3:2020

Lời nói đầu

TCVN 7391-3:2020 thay thế cho TCVN 7391-3:2005.

TCVN 7391-3:2020 hoàn toàn tương đương với ISO 10993-3:2014.

TCVN 7391-3:2020 do Ban Kỹ thuật Tiêu chuẩn quốc gia TCVN/TC194 *Đánh giá sinh học và lâm sàng trang thiết bị y tế* biên soạn, Tổng cục Tiêu chuẩn Đo lường Chất lượng đề nghị, Bộ Khoa học và Công nghệ công bố.

Bộ TCVN 7391 (ISO 10993), *Đánh giá sinh học 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 7391-2:2020 (ISO 10993-2:2006), *Phần 2: Yêu cầu sử dụng động vật*
- TCVN 7391-3:2020 (ISO 10993-3:2014), *Phần 3: Phép thử độc tính di truyền, khả năng gây ung thư và độc tính sinh sản*
- TCVN 7391-4:2020 (ISO 10993-4:2017), *Phần 4: Lựa chọn phép thử tương tác với máu*
- TCVN 7391-5:2020 (ISO 10993-5:2009), *Phần 5: Phép thử độc tính tế bào in vitro*
- TCVN 7391-6:2020 (ISO 10993-6:2016), *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 7391-10:2002 (ISO 10993-10:2007), *Phần 10: Phép thử kích thích và quá mẫn muộn*
- TCVN 7391-11:2020 (ISO 10993-11:2017), *Phần 11: Phép thử độc tính toàn thân*
- TCVN 7391-12:2002 (ISO 10993-12:2007), *Phần 12: Chuẩn bị mẫu và vật liệu chuẩn*
- TCVN 7391-14:2001 (ISO 10993-14:2007), *Phần 14: Nhận dạng và định lượng sản phẩm phân huỷ từ gốm sứ*
- TCVN 7391-15:2007 (ISO 10993-15:2000), *Phần 15: Nhận dạng và định lượng sản phẩm phân huỷ từ kim loại và hợp kim*
- TCVN 7391-16:2020 (ISO 10993-16:2017), *Phần 16: Thiết kế nghiên cứu độc lực cho sản phẩm phân huỷ và ngâm chiết*
- TCVN 7391-17:2002 (ISO 10993-17:2007), *Phần 17: Thiết lập giới hạn cho phép của chất ngâm chiết*
- TCVN 7391-18:2005 (ISO 10993-18:2007), *Phần 18: Đặc trưng hoá học của vật liệu*

Bộ ISO 10993 còn các tiêu chuẩn sau:

- ISO 10993-9:2019, *Biological evaluation of medical devices – Part 9: Framework for identification and quantification of potential degradation products*
- ISO 10993-13:2010, *Biological evaluation of medical devices – Part 13: Identification and quantification of degradation products from polymeric medical devices*
- ISO/TS 10993-19:2020, *Biological evaluation of medical devices – Part 19: Physico-chemical, morphological and topographical characterization of materials*
- ISO/TS 10993-20:2006, *Biological evaluation of medical devices – Part 20: Principles and methods for immunotoxicology testing of medical devices*
- ISO/TR 10993-22:2017, *Biological evaluation of medical devices – Part 22: Guidance on nanomaterials*
- ISO/TR 10993-33:2015, *Biological evaluation of medical devices – Part 33: Guidance on tests to evaluate genotoxicity – Supplement to ISO 10993-3*

Lời giới thiệu

Cơ sở để đánh giá sinh học các trang thiết bị y tế thường dựa trên kinh nghiệm và được thúc đẩy bởi các mối quan tâm liên quan đến an toàn của con người. Sự rủi ro ảnh hưởng nghiêm trọng và không thể đảo ngược, chẳng hạn như ung thư hoặc quái thai ở thế hệ thứ hai phải được đặc biệt lưu tâm. Các điều khoản về cung cấp các trang thiết bị y tế an toàn như giảm thiểu các rủi ro như vậy phải được đặt lên hàng đầu. Việc đánh giá các rủi ro về biến đổi gen, chất gây ung thư và sinh sản là một thành phần thiết yếu trong việc kiểm soát các rủi ro này. Không phải tất cả các phương pháp thử để đánh giá độc tính di truyền, khả năng gây ung thư hoặc độc tính sinh sản đều được nghiên cứu một cách đầy đủ như nhau, cũng như tính pháp lý của các thử nghiệm về trang thiết bị y tế cũng chưa được thiết lập một cách chuẩn xác.

Các vấn đề quan trọng với kích cỡ và chuẩn bị mẫu thử, các kiến thức khoa học về quy trình chữa trị bệnh và xác nhận thử nghiệm có thể được trích dẫn là những hạn chế của các phương pháp có sẵn. Ví dụ, ý nghĩa sinh học của chất gây ung thư ở cơ thể con người còn được hiểu rất ít. Hy vọng rằng những tiến bộ khoa học và y tế đang diễn ra sẽ cải thiện sự hiểu biết và cách tiếp cận của chúng ta đối với các tác dụng độc hại quan trọng này. Tại thời điểm xây dựng tiêu chuẩn này, các phương pháp thử được đề xuất là những phương pháp được chấp nhận nhất. Các lựa chọn thay thế hợp lý cho thử nghiệm đề xuất có thể được chấp nhận trong chừng mực vì chúng giải quyết các vấn đề liên quan về đánh giá tính an toàn.

Trong việc lựa chọn các phép thử cần thiết để đánh giá một trang thiết bị y tế cụ thể, không có sự thay thế nào khác là phải đảm bảo việc đánh giá thận trọng đối với việc sử dụng con người dự kiến và các tương tác tiềm ẩn của trang thiết bị y tế với các hệ thống sinh học khác nhau. Những cân nhắc này sẽ đặc biệt quan trọng trong các lĩnh vực như: độc tính sinh sản và phát triển.

Tiêu chuẩn này giới thiệu các phương pháp thử để phát hiện các nguy cơ sinh học cụ thể và các kế hoạch để lựa chọn các phép thử, khi thích hợp, điều này sẽ giúp cho việc nhận dạng các nguy cơ. Việc thử nghiệm không phải lúc nào cũng cần hoặc có ích trong việc quản lý rủi ro độc tính liên quan đến phơi nhiễm với vật liệu trang thiết bị y tế, nhưng điều quan trọng là phải đạt được độ nhạy tối đa của phép thử, nếu phù hợp.

Theo quan điểm về vô số kết quả có thể có và tầm quan trọng của các yếu tố như mức độ phơi nhiễm, sự khác biệt về loài và các cân nhắc về cơ học hoặc vật lý, việc đánh giá rủi ro phải được thực hiện trên cơ sở của từng trường hợp cụ thể.

Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế – Phần 3: Phép thử độc tính di truyền, khả năng gây ung thư và độc tính sinh sản

*Biological evaluation of medical devices –
Part 3: Tests for genotoxicity, carcinogenicity and reproductive toxicity*

1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các kế hoạch để ước tính rủi ro, lựa chọn các phép thử nhận biết nguy cơ và quản lý rủi ro, liên quan đến khả năng của các tác động sinh học phát sinh do phơi nhiễm với các trang thiết bị y tế có khả năng không thể đảo ngược sau đây:

- độc tính di truyền;
- khả năng gây ung thư; và
- độc tính sinh sản và phát triển.

Tiêu chuẩn này áp dụng khi cần đánh giá một trang thiết bị y tế đã thiết lập được khả năng đối với độc tính di truyền, gây ung thư hoặc độc tính sinh sản.

CHÚ THÍCH: Hướng dẫn về lựa chọn các phép thử được cung cấp trong TCVN 7391-1 (ISO 10993-1).

2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau đây là cần thiết để áp dụng tiêu chuẩn này. Đối với các tài liệu viện dẫn ghi năm công bố thì áp dụng bản được nêu. Đối với các tài liệu viện dẫn không ghi năm công bố thì áp dụng phiên bản mới nhất, bao gồm cả các sửa đổi, bổ sung (nếu có).

TCVN 7391-1 (ISO 10993-1), *Đánh giá sinh học các trang thiết bị y tế – Phần 1: Đánh giá và thử nghiệm trong quá trình quản lý rủi ro*

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

TCVN 7391-6 (ISO 10993-6), *Đánh giá sinh học các trang thiết bị y tế – Phần 6: Phép thử hiệu ứng tại chỗ sau cấy ghép*

TCVN 7391-3:2020

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

TCVN 7391-18 (ISO 10993-18), *Đánh giá sinh học các trang thiết bị y tế – Phần 18: Đặc trưng hóa học của vật liệu*

OECD 414, *Prenatal Development Toxicity Study (Nghiên cứu độc tính phát triển trước sinh)*

OECD 415, *One-Generation Reproduction Toxicity Study (Nghiên cứu độc tính sinh sản một thế hệ)*

OECD 416, *Two-generation Reproduction Toxicity (Độc tính sinh sản hai thế hệ)*

OECD 421, *Reproduction/Developmental Toxicity Screening Test (Phép thử sàng lọc độc tính sinh sản/phát triển)*

OECD 451, *Carcinogenicity Studies (Nghiên cứu khả năng gây ung thư)*

OECD 453, *Combined Chronic Toxicity/Carcinogenicity Studies (Nghiên cứu sự kết hợp độc tính mãn tính/khả năng gây ung thư)*

OECD 471, *Bacterial Reverse Mutation Test (Phép thử đột biến ngược đối với vi khuẩn)*

OECD 473, *In vitro Mammalian Chromosome Aberration Test (Phép thử bất thường cấu trúc nhiễm sắc thể ở động vật có vú in vitro)*

OECD 476, *In vitro Mammalian Cell Gene Mutation Test (Phép thử đột biến gen tế bào ở động vật có vú in vitro)*

OECD 487, *In vitro Mammalian Cell Micronucleus Test (Phép thử Nhân sinh sản ở động vật có vú in vitro)*

3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này, áp dụng các thuật ngữ và định nghĩa nêu trong TCVN 7391-1 (ISO 10993-1), TCVN 7391-12 (ISO 10993-12) và các thuật ngữ và định nghĩa sau:

3.1

phép thử khả năng gây ung thư (carcinogenicity test)

phép thử để xác định khả năng gây ung thư của các trang thiết bị y tế, vật liệu và/hoặc dịch chiết bằng cách cho phơi nhiễm nhiều lần trong một phần quãng đời tồn tại của động vật thử nghiệm

3.2

trang thiết bị y tế tích tụ năng lượng (energy-depositing medical device)

trang thiết bị có tác dụng trị liệu hoặc chẩn đoán bằng cách truyền bức xạ điện từ, bức xạ ion hóa hoặc siêu âm

CHÚ THÍCH: Định nghĩa này không bao gồm các trang thiết bị y tế truyền dòng điện đơn giản, ví dụ các trang thiết bị y tế đốt bằng điện, máy tạo nhịp tim hoặc máy kích thích chức năng bằng điện.

3.3

phép thử độc tính di truyền (genotoxicity test)

phép thử sử dụng tế bào động vật có vú hoặc không có vú, vi khuẩn, men, nấm hoặc động vật nguyên thể để xác định xem có đột biến gen, thay đổi cấu trúc nhiễm sắc thể, hoặc các thay đổi ADN hoặc gen khác gây ra bởi các mẫu thử hay không

3.4

liều chịu đựng tối đa (maximum tolerated dose)

MTD

liều tối đa mà động vật thử có thể chịu đựng được mà không gây ra bất kỳ ảnh hưởng có hại nào

3.5

phép thử độc tính sinh sản và phát triển (reproductive and developmental toxicity test)

phép thử để đánh giá những ảnh hưởng tiềm tàng của các mẫu thử đối với chức năng sinh sản, mô phôi học (gây quái thai) và phát triển ở giai đoạn sớm trước và sau khi sinh

3.6

chuẩn bị mẫu thử (test sample preparation)

lượng vật liệu thiết bị có thể chiết, lọc hoặc phân hủy sinh học được tái huyền phù trong một tá dược lỏng tương thích với hệ thống thử nghiệm

4 Yêu cầu đối với kế hoạch thử nghiệm

4.1 Quy định chung

TCVN 7391-1 (ISO 10993-1) chỉ ra các trường hợp mà khả năng gây độc tính di truyền, gây ung thư và độc tính sinh sản là một nguy cơ liên quan đến việc xem xét đánh giá toàn bộ an toàn sinh học. Thử nghiệm để nghiên cứu các nguy cơ này phải được chứng minh dựa trên cơ sở đánh giá rủi ro. Khi xác định xem thử nghiệm thiết bị có độc tính di truyền, khả năng gây ung thư và độc tính sinh sản hay không, đánh giá rủi ro phải đảm bảo giải quyết các yếu tố sau:

- phân tích các thành phần hóa học của các vật liệu thiết bị, bao gồm cả các cặn và các sản phẩm phân hủy hoặc các chất chuyển hóa của quá trình sản xuất, để xác định nguyên nhân gây lo ngại trên cơ sở mối quan hệ hoạt động cấu trúc hoặc chứng minh trước đây về độc tính liên quan trong nhóm hóa chất,
- cơ sở cơ học của phản ứng độc hại đang được xem xét, nếu có,

TCVN 7391-3:2020

- thông tin hiện có liên quan đến sự đánh giá độc tính di truyền, khả năng gây ung thư và độc tính sinh sản của trang thiết bị y tế,
- mức độ sử dụng các vật liệu tương đương trước đây trong các ứng dụng liên quan,
- xem xét các dư lượng từ thiết bị thành phẩm liên quan đến mức độ đặc trưng của chúng và hoạt động sinh học tiềm năng của chúng (ví dụ: mối quan hệ hoạt động cấu trúc hoặc chứng minh trước đây của các kết quả có liên quan).
- đường phơi nhiễm,
- quần thể bệnh nhân,
- mức độ và khoảng thời gian khoan vùng (tại vị trí cấy hoặc sử dụng) và phơi nhiễm toàn thân,
- tác động dự kiến của kết quả thử nghiệm (hoặc thiếu thử nghiệm) đối với các đánh giá quản lý rủi ro và
- thay đổi về kiểu hoặc dư lượng vật liệu mà bệnh nhân sẽ phơi nhiễm, thông qua việc tăng phơi nhiễm thiết bị hoặc tăng kích thước thiết bị khi so sánh với một thiết bị tương đương.

Các công cụ đánh giá rủi ro thường được sử dụng (ví dụ: TTC) có thể hữu ích trong việc đánh giá các yếu tố này.

Khi phân tích thành phần của vật liệu thiết bị cho thấy sự có mặt của các thành phần hóa học đáng quan tâm nhưng có sẵn đối với dữ liệu độc tính không đầy đủ, phải xem xét thử nghiệm hóa chất riêng lẻ. Các hóa chất riêng lẻ phải được thử nghiệm theo sở thích đối với các vật liệu hỗn hợp hoặc dịch chiết, trong đó điều này sẽ cải thiện ước tính rủi ro. Trường hợp thử nghiệm vật liệu thiết bị được chỉ định thử nghiệm phải được tiến hành trên thành phẩm (bao gồm khử trùng nếu có), hoặc đại diện từ thành phẩm, hoặc vật liệu được xử lý theo cách tương tự như thành phẩm (bao gồm khử trùng nếu có). Quyết định thử nghiệm và bản chất của mẫu thử phải được chứng minh và ghi lại.

Thử nghiệm có thể được bảo đảm cho các trạng thái bổ sung của thiết bị, chẳng hạn như các mảnh vụn được tạo ra từ thiết bị hoặc vật liệu bảo dưỡng *in situ* (ví dụ: xi măng, chất kết dính và hỗn hợp tiền polyme) trừ khi công bố đánh giá rủi ro độc tính xác định không có nguyên nhân gây lo ngại từ thiết bị/vật liệu bổ sung. Đối với hướng dẫn về các thiết bị bảo dưỡng *in situ*, xem TCVN 7391-12 (ISO 10993-12).

4.2 Yêu cầu bổ sung đối với phép thử khả năng gây ung thư

Đối với phép thử khả năng gây ung thư, ngoài 4.1, các yếu tố sau phải được chú ý đến:

- đặc tính vật lý (ví dụ: kích thước và hình dạng hạt, kích thước lỗ rỗng, tính liên tục bề mặt, tình trạng bề mặt, độ dày thiết bị);
- kết quả từ các nghiên cứu về độc tính di truyền, cấy ghép và các nghiên cứu khác.

4.3 Yêu cầu bổ sung đối với phép thử độc tính sinh sản

Đối với phép thử sinh sản, ngoài 4.1, tổng thời gian tiếp xúc tích lũy trực tiếp hoặc gián tiếp với mô sinh sản, phối/thai hoặc tế bào mầm phải được chú ý đến.

Mọi thông tin từ các tài liệu được công bố về tác dụng của vật liệu thiết bị đối với cơ quan sinh sản nam/nữ hoặc từ nghiên cứu bán cấp tính/mạn tính về mô bệnh học của hệ thống sinh sản cũng phải là cơ sở trước khi thực hiện phép thử độc tính sinh sản toàn diện.

5 Phép thử độc tính di truyền

5.1 Quy định chung

Trước khi quyết định thực hiện phép thử độc tính di truyền, phải xem xét TCVN 7391-1 (ISO 10993-1). Cơ sở cho một chương trình thử nghiệm là xem xét tất cả các yếu tố liên quan được nêu trong 4.1 đến 4.3, phải được chứng minh và ghi lại.

Các phép thử độc tính di truyền được thiết kế để phát hiện hai loại tổn hại di truyền chính:

- Đột biến gen (đột biến điểm);
- Tổn thương nhiễm sắc thể [sai lệch cấu trúc như dịch mã, xóa và chèn đoạn nhỏ hoặc lớn, và sai lệch số lượng nhiễm sắc thể (lệch bội lè)].

5.2 Kế hoạch thử nghiệm

5.2.1 Quy định chung

Không có phép thử đơn lẻ nào có khả năng phát hiện tất cả các tác nhân gây độc tính di truyền có liên quan. Do đó, cách tiếp cận thông thường là tiến hành sử dụng bộ thử nghiệm *in vitro* và trong một số trường hợp nhất định cũng có các thử nghiệm *in vivo*.

Các phép thử đột biến ngược đối với vi khuẩn đã được chứng minh là phát hiện các thay đổi di truyền có liên quan được tạo ra bởi phần lớn các chất gây ung thư di truyền được phát hiện bởi các xét nghiệm trên loài gặm nhấm. Một số loại genotoxin, ví dụ: halogenua alkyl, không được phát hiện.

Tiềm năng của vật liệu thử nghiệm để tạo ra sự phá hủy ADN trong các hệ thống vi khuẩn có thể không liên quan đến tác động có thể có của chúng trong các tế bào nhân chuẩn và do đó thử nghiệm trong các hệ thống phép thử tế bào động vật có vú phải được thực hiện trừ khi có lý do khác. Một số hệ thống tế bào động vật có vú đang được sử dụng: hệ thống phát hiện tổn thương nhiễm sắc thể thô (phép thử *in vitro* để phát hiện sai lệch cấu trúc và số lượng nhiễm sắc thể), hệ thống phát hiện đột biến gen chủ yếu (phép thử đột biến HPRT) và hệ thống phát hiện đột biến gen và tác động của gen [phép thử lymphoma thymidine kinase (tk) trên chuột với cả xác định số lượng và kích thước khuẩn lạc]. Các phép thử *in vitro* đối với tổn thương nhiễm sắc thể và

TCVN 7391-3:2020

phép thử lymphoma tk trên chuột cho kết quả tương đương. Kết quả từ cả hai phép thử có mức độ phù hợp tương đối cao đối với các hợp chất được coi là độc tính di truyền nhưng mang lại kết quả âm tính trong phép thử đột biến ngược đối với vi khuẩn. Do đó, phép thử sai lệch nhiễm sắc thể và xét nghiệm lymphoma tk trên chuột hiện được coi là chấp nhận được như nhau khi cả hai được sử dụng với phép thử đột biến ngược đối với vi khuẩn trong pin tiêu chuẩn để thử nghiệm độc tính di truyền.

5.2.2 Bộ thử nghiệm

Khi thử nghiệm độc tính di truyền được thực hiện, bộ thử nghiệm phải bao gồm:

- thử nghiệm đột biến gen ở vi khuẩn (OECD 471), được sửa đổi cho các trang thiết bị y tế để cho phép, ví dụ, thử nghiệm với dịch chiết từ các thiết bị, xem ISO/TR 10993-33, Điều 6, và
- thử nghiệm *in vitro* với đánh giá tế bào học về tổn thương nhiễm sắc thể với tế bào động vật có vú (OECD 473), được sửa đổi cho các trang thiết bị y tế, xem ISO/TR 10993-33, Điều 7, hoặc
- phép thử ung thư hạch bạch huyết ở chuột *in vitro* (OECD 476), được sửa đổi cho các trang thiết bị y tế, bao gồm phát hiện các khuẩn lạc nhỏ (tăng trưởng chậm) và lớn, xem ISO/TR 10993-33, Điều 9, hoặc
- phép thử nhân sinh sản tế bào động vật có vú *in vitro* về tổn thương nhiễm sắc thể và vô sinh (OECD 487), được sửa đổi cho các trang thiết bị y tế, xem ISO/TR 10993-33, Điều 8.

Khi các yếu tố liên quan bổ sung (như cơ chế gây độc tính di truyền và dược động học) có thể ảnh hưởng đến hoạt động nhiễm độc gen của một hợp chất, cần xem xét phép thử *in vivo* có thể được thực hiện nếu được chứng minh. Một phép thử *in vivo* về tổn thương nhiễm sắc thể trong các tế bào tạo máu của loài gặm nhấm có thể là phân tích sai lệch nhiễm sắc thể trong các tế bào tủy xương hoặc phân tích nhân sinh sản trong tủy xương hoặc hồng cầu máu ngoại vi [xem ISO/TR 10993-33, Điều 10 (OECD 474) hoặc ISO/TR 10993-33, Điều 11 (OECD 475)].

Trong trường hợp có thể áp dụng, thử nghiệm *in vivo* về tổn thương nhiễm sắc thể trong các tế bào tạo máu của loài gặm nhấm phải được thực hiện bằng hai dịch chiết (xem TCVN 7391-12 (ISO 10993-12) hoặc Phụ lục A). Các đường ứng dụng thích hợp của tá dược lỏng phân cực là tiêm truyền tĩnh mạch. Đường ứng dụng thích hợp của tá dược lỏng không phân cực là màng bụng.

Một phép thử *in vivo* là không cần thiết, nếu người dùng có thể chứng minh rằng số lượng dịch chiết từ vật liệu thử nghiệm ít hơn lượng vật liệu sẽ tạo ra phản ứng dương tính với nhiễm độc gen lên nhân sinh sản *in vivo* đặc trưng mạnh.

Một ví dụ là cisplatin (CAS số 15663-27-1), cho thấy phản ứng dương tính ở mức 0,3 mg/kg, xem Tài liệu tham khảo^[35].

5.2.3 Đánh giá theo dõi

Nếu thử nghiệm độc tính di truyền được thực hiện theo 5.2.2 và nếu kết quả của hai phép thử *in vitro* là âm tính, thì không cần thử nghiệm độc tính di truyền ở động vật nữa.

Nếu bất cứ phép thử nào là dương tính, quy trình từng bước sau đây phải được áp dụng (xem thêm Phụ lục B).

Bước 1: Nhận biết các yếu tố gây nhiễu trong kết quả từ bộ phép thử độc tính di truyền ban đầu, nếu có sẵn.

- Nhận biết các yếu tố gây nhiễu (ví dụ: điều kiện không thuộc sinh lý, tương tác của vật liệu thử nghiệm với môi trường nuôi cấy, quá trình oxy hóa tự động và độc tính tế bào).
- Nhận biết các ảnh hưởng của chuyển hóa (ví dụ: bản chất của hệ thống trao đổi chất ngoại sinh, bản chất của hồ sơ chuyển hóa, các chất chuyển hóa duy nhất).
- Nhận biết tạp chất bằng đặc tính hóa học (nghĩa là nghiên cứu thành phần vật liệu hoặc thử nghiệm phân tích).

Bước 2: Đánh giá trọng số bằng chứng (WOE) với cơ chế và phương thức hành động (MOA) sẽ được xem xét.

- a) Phương thức hoạt động của phản ứng ADN trực tiếp so với phản ứng ADN không trực tiếp.
- b) Các vấn đề về lệch bội lẻ và đa bội. Là cơ chế lệch bội lẻ có liên quan?

Bước 3: Điểm quyết định.

Xác định xem dịch chiết từ trang thiết bị y tế hoặc hóa chất cần quan tâm là genotoxin và nếu:

- a) việc giải thích kết quả và phân tích WOE/MOA trong khung đánh giá rủi ro độc tính cho thấy mối quan tâm thấp/không đáng kể đối với bệnh nhân theo cách sử dụng dự kiến, hoặc
- b) việc giải thích kết quả và phân tích WOE/MOA trong khung đánh giá rủi ro độc tính cho thấy có thể có những rủi ro tiềm ẩn cho bệnh nhân theo sử dụng dự kiến.

Nếu xác định là a) không cần thêm phép thử hoặc đánh giá.

Nếu quyết định là b), thì tiếp tục bước 4.

Bước 4: Thực hiện quản lý rủi ro.

Hoặc quản lý rủi ro giả định nguy cơ độc tính di truyền hoặc chọn thử nghiệm theo *in vitro* và/hoặc *in vivo* thích hợp.

Bước 5: Chọn và thực hiện phép thử *in vitro* và/hoặc *in vivo* bổ sung.

TCVN 7391-3:2020

Bất kỳ phép thử *in vivo* nào cũng phải được chọn trên cơ sở điểm cuối thích hợp nhất được xác định bằng các phép thử *in vitro*.

Các phép thử *in vivo* thường được sử dụng là:

- phép thử nhân sinh sản ở loài gặm nhấm (OECD 474),
- phân tích pha giữa trong tủy xương của loài gặm nhấm (OECD 475),
- các phép thử gây đột biến gen (OECD 488).

Quyết định về hệ thống phép thử phù hợp nhất phải được chứng minh và ghi lại.

CHÚ THÍCH: Gần đây, dự thảo hướng dẫn OECD để thử nghiệm các hóa chất trên phép thử điện di gel đơn bào kiểm (Comet) đang được xây dựng để thử nghiệm độc tính di truyền. Thử nghiệm này có thể chứng minh giá trị đối với thử nghiệm trang thiết bị y tế, nhưng tại thời điểm công bố ISO 10993-3, Hướng dẫn OECD chưa được công bố.¹⁾

Một nỗ lực phải được thực hiện để chứng minh rằng chất thử đã đạt đến cơ quan đích. Đối với phép thử nhân sinh sản ở loài gặm nhấm hoặc phân tích pha giữa trong tủy xương của loài gặm nhấm, tính khả dụng sinh học có thể được chứng minh bằng một trong các phương pháp sau:

- định lượng phân tích các hợp chất chiết cụ thể trong máu hoặc huyết thanh,
- thử nghiệm dịch chiết gây độc tính tế bào cho các tế bào tủy xương,
- đường tiêm truyền tĩnh mạch (đối với tá dược lỏng phân cực).

Nếu không thể chứng minh được sự phơi nhiễm cơ quan đích, phép thử *in vivo* thứ hai ở một cơ quan đích khác phải được thực hiện để xác minh sự thiếu độc tính di truyền *in vivo*.

Bước 6: Giải thích lại tất cả các dữ liệu tích lũy và xác định xem vật liệu thử nghiệm có phải là nhiễm độc gen hay không.

Trong một số trường hợp, phép thử *in vitro* dương tính có thể không liên quan. Những điều sau đây cần được xem xét trong việc xác định mức độ phù hợp của kết quả *in vitro*. Danh sách này không đầy đủ nhưng được đưa ra như một sự trợ giúp cho quá trình ra quyết định.

- a) Chỉ có một trong hai thử nghiệm *in vitro* ban đầu được thực hiện có kết quả dương tính.
- b) Nghiên cứu *in vitro* tiếp theo sử dụng các điểm cuối cơ học tương tự không xác nhận kết quả dương tính.
- c) Thông tin cơ học chỉ ra rằng kết quả *in vitro* dương tính không liên quan đến các tình huống *in vivo* (ví dụ: độc tính tế bào cao, tính thẩm thấu, v.v...).

¹⁾ Dự thảo OECD - Hướng dẫn thử nghiệm hóa chất - Xét nghiệm Comet động vật có vú *in vivo*, có sẵn tại: <http://www.oecd.org/>

d) Thử nghiệm *in vivo* bao gồm bằng chứng cho thấy mẫu thử đạt đến cơ quan đích không chứng minh được ảnh hưởng của nhiễm độc gen.

WOE tổng thể và giải thích toàn bộ tập dữ liệu phải được ghi lại với kết luận cuối cùng. Trong một số trường hợp, các phép thử cụ thể tại điểm cụ thể hoặc điểm cuối di truyền có thể cần thiết. Trong hầu hết các trường hợp, các phép thử này không có giao thức được quốc tế công nhận.

5.3 Chuẩn bị mẫu

Trừ khi mẫu có thể được hòa tan trong dung môi tương thích với hệ thống thử nghiệm, các dung môi chiết thích hợp phải được lựa chọn trên cơ sở khả năng chiết tối đa vật liệu hoặc trang thiết bị y tế đến mức mà nồng độ của dư lượng gây nhiễm độc gen cần đủ để tạo ra phản ứng dương tính trong hệ thống phép thử, nhưng không làm suy giảm thiết bị hoặc mẫu thử. Các tá dược lỏng của hệ thống phép thử phải được chọn trên cơ sở tính tương thích của nó với hệ thống phép thử độc tính di truyền. Các phép thử phải được thực hiện trên các dung dịch, huyền phù (ví dụ: Phương pháp A trong Phụ lục A), dịch chiết (ví dụ: Phương pháp C trong Phụ lục A) hoặc dịch chiết phóng đại (ví dụ: Phương pháp B trong Phụ lục A) của thiết bị thành phẩm (bao gồm khử trùng nếu có), vật liệu thiết bị, thành phần thiết bị hoặc các hóa chất riêng lẻ của thiết bị.

Vật liệu thiết bị nên bao gồm tất cả các dạng phối chế và xử lý cuối cùng, trừ khi có lý do khác. Nói chung là không thích hợp để tiến hành thử nghiệm trên các nguyên liệu thô, vì dạng phối chế và xử lý có thể thay đổi khả năng độc tính của thiết bị cuối cùng.

Lý do lựa chọn để thử nghiệm các hóa chất riêng lẻ phải được chứng minh và ghi lại. Cơ sở lựa chọn sẽ bao gồm các cân nhắc về tương tác và tác dụng đồng thời.

Nếu có liên quan, vật liệu thử phải được chiết bằng hai dung môi (xem TCVN 7391-12 (ISO 10993-12) hoặc Phụ lục A).

Mọi quyết định bỏ qua thử nghiệm với một loại dung môi phải được chứng minh và ghi lại.

6 Phép thử khả năng gây ung thư

6.1 Quy định chung

Trước khi quyết định thực hiện phép thử khả năng gây ung thư được đưa ra, phải xem xét TCVN 7391-1 (ISO 10993-1). Quyết định thực hiện phép thử phải được chứng minh dựa trên đánh giá rủi ro về khả năng gây ung thư phát sinh từ việc sử dụng trang thiết bị y tế. Không thực hiện phép thử khả năng gây ung thư khi rủi ro có thể được đánh giá hoặc quản lý đầy đủ mà không tạo ra dữ liệu phép thử khả năng gây ung thư mới.

Những phép thử này có thể được thiết kế để kiểm tra đồng thời trong một nghiên cứu duy nhất cho cả độc tính mãn tính và khả năng gây ung thư. Khi độc tính mãn tính và khả năng gây ung

TCVN 7391-3:2020

thử được đánh giá trong một nghiên cứu duy nhất, cần phải quan tâm đặc biệt ở giai đoạn thiết kế nghiên cứu để đảm bảo các nhóm liều phù hợp.

Điều này giúp ngăn ngừa hoặc giảm thiểu tử vong sớm do độc tính hệ thống mãn tính/tích lũy ảnh hưởng đến việc đánh giá thống kê dữ liệu thu được từ động vật sống sót đến cuối thời gian nghiên cứu (nghĩa là tuổi thọ bình thường).

CHÚ THÍCH: Các hệ thống biến đổi tế bào *in vitro* có sẵn để sàng lọc trước khả năng gây ung thư [ví dụ: xét nghiệm biến đổi tế bào phôi chuột Hamster (SHE) và xét nghiệm biến đổi tế bào Balb3T3]. Tại thời điểm công bố ISO 10993-3, Hướng dẫn OECD chưa được công bố. Thông tin bổ sung về các hệ thống phép thử biến đổi tế bào được nêu trong Phụ lục D.

6.2 Kế hoạch đánh giá

Phép thử khả năng gây ung thư của vật liệu gây độc tính di truyền phải được chứng minh một cách khoa học. Trong hầu hết các trường hợp đối với vật liệu gây độc tính di truyền, nguy cơ gây ung thư có thể được giả định và rủi ro được quản lý theo đó.

Trong trường hợp không có bằng chứng để loại trừ rủi ro gây ung thư đối với các vật liệu không gây độc tính di truyền, các tình huống cần phép thử khả năng gây ung thư phải được xem xét có thể bao gồm:

- vật liệu có thời gian phân hủy lớn hơn 30 ngày;
- vật liệu được đưa vào trong cơ thể và/hoặc hốc khoang của cơ thể với sự tiếp xúc tích lũy lớn hơn 30 ngày.

Các trường hợp thử nghiệm không thể được chứng minh bao gồm:

- các vật liệu có dữ liệu quan trọng và đầy đủ về việc sử dụng hoặc phơi nhiễm với con người;
- các vật liệu dự kiến sẽ làm phát sinh chất gây ung thư ở trạng thái rắn (xem Phụ lục E);
- các ràng buộc về phương pháp hoặc các trường hợp khác sẽ giới hạn giá trị tiên đoán của một thử nghiệm.

Để xác định xem một thiết bị có lịch sử sử dụng đáng kể của con người hay không, đánh giá nên bao gồm một đánh giá nhằm giải quyết nếu thiết bị đó trải qua quy trình sản xuất tương tự, được sử dụng để điều trị cho một nhóm bệnh nhân tương tự, tại một địa điểm điều trị tương tự và có phơi nhiễm tích lũy nhỏ hơn hoặc tương tự. Lịch sử sử dụng của con người nên ghi lại liệu thông tin có sẵn từ việc theo dõi các tác dụng phụ, đặc biệt là rủi ro gây ung thư, trong quần thể sử dụng của con người hay không.

Khi xem xét liệu có nên thực hiện nghiên cứu khả năng gây ung thư hay không, vai trò của nghiên cứu trong đánh giá rủi ro của con người nên được mô tả, nhu cầu nghiên cứu và thiết kế nghiên cứu phải được chứng minh. Sự biện minh này phải xem xét đến vai trò không chắc chắn của các

ngiên cứu khả năng gây ung thư của cấy ghép trong việc đánh giá an toàn sinh học cùng với số lượng đáng kể của động vật.

Nếu theo TCVN 7391-1 (ISO 10993-1), độc tính mãn tính và khả năng gây ung thư được coi là có liên quan và được xác định rằng phép thử là cần thiết, phép thử phải được thực hiện theo OECD 453, nếu có thể.

Nếu theo TCVN 7391-1 (ISO 10993-1), chỉ có nghiên cứu khả năng gây ung thư được coi là có liên quan và được xác định rằng phép thử là cần thiết, thử nghiệm phải được thực hiện theo OECD 451.

Một loài động vật thường đủ để thử nghiệm các trang thiết bị y tế. Việc lựa chọn các loài phải tuân theo TCVN 7391-2 (ISO 10993-2) và phải được chứng minh và ghi lại lý do.

6.3 Chuẩn bị mẫu

Khi các phép thử khả năng gây ung thư là cần thiết như là một phần của đánh giá về an toàn sinh học, các nghiên cứu này phải được thực hiện bằng vật liệu, hóa chất được xác định hoặc dịch chiết đặc trưng của các trang thiết bị y tế.

Trang thiết bị y tế phải được thử nghiệm dưới dạng đại diện của trạng thái thiết bị thành phẩm. Thử nghiệm bổ sung có thể được bảo đảm cho các trạng thái bổ sung của thiết bị, chẳng hạn như các mảnh vụn mài mòn được tạo ra từ thiết bị hoặc vật liệu bảo dưỡng *in situ* (ví dụ: xi măng, chất kết dính và hỗn hợp tiền polyme). Để được hướng dẫn về các thiết bị bảo dưỡng *in situ*, xem TCVN 7391-12 (10993-12).

Việc lựa chọn mẫu thử (vật liệu thiết bị, dịch chiết từ vật liệu thiết bị hoặc hóa chất được xác định) phải được chứng minh và ghi lại.

Liều cao nhất được sử dụng ở động vật là liều chịu đựng tối đa hoặc bị giới hạn bởi các ràng buộc vật lý của mô hình động vật. Liều này phải được biểu thị bằng bội số của mức phơi nhiễm tối đa ước tính của con người (tính theo trọng lượng và/hoặc diện tích bề mặt trên mỗi kilogram).

6.4 Phương pháp thử

Nếu thử nghiệm chiết được coi là có liên quan, các phép thử khả năng gây ung thư phải được thực hiện theo OECD 451 hoặc OECD 453.

Các mô được đánh giá sẽ bao gồm các mô có liên quan từ danh sách được chỉ định trong OECD 451 hoặc OECD 453, cũng như vị trí cấy ghép và các mô lân cận.

Đối với các nghiên cứu sử dụng dịch chiết từ vật liệu thiết bị hoặc hóa chất được xác định, một giải thích sẽ giải quyết lý do tại sao các đặc tính bề mặt vật liệu không phải là yếu tố gây ung thư. Phải xem xét các cân nhắc về việc thực hiện các nghiên cứu cấy ghép (xem Phụ lục E) và vai trò của các tính chất bề mặt trong đánh giá rủi ro của con người phải được mô tả và ghi lại.

TCVN 7391-3:2020

Đối với các nghiên cứu cấy ghép để đánh giá khả năng gây ung thư, lượng vật liệu được cấy phải là đại diện cho liều của con người phóng đại, cung cấp đủ độ an toàn. Liều cao nhất phải bị giới hạn bởi các hạn chế về thể chất của mô hình động vật. Liều này phải được biểu thị bằng bội số của mức phơi nhiễm tối đa ước tính của con người (tính theo trọng lượng và/hoặc diện tích bề mặt trên mỗi kilogam).

Hệ số an toàn gấp 100 lần được áp dụng cho mức phơi nhiễm tối đa của con người ước tính (về trọng lượng và/hoặc diện tích bề mặt trên mỗi kilogam), tuy nhiên, liều phải tương thích về mặt sinh lý với mô hình. Nhóm kiểm soát âm tính nói chung sẽ nhận được hình dạng và hình thức tương đương của vật liệu kiểm soát lâm sàng hoặc vật liệu kiểm soát tham chiếu có khả năng gây ung thư đã được ghi nhận (ví dụ: polyetylen).

Khi thích hợp, bộ cấy được tạo hình phù hợp theo TCVN 7391-6 (ISO 10993-6) phải được chế tạo bằng vật liệu thử, với sự cân nhắc thích hợp được đưa ra cho khả năng gây ung thư ở trạng thái rắn, (xem Tài liệu tham khảo^[33]).

Ví dụ: Vật liệu thử: Polyme
Kích bản phơi nhiễm: Một bệnh nhân điển hình phải phơi nhiễm tối đa với 11 g polyme trong thiết bị.
Liều con người: 0,19 g/kg (dựa trên trọng lượng cơ thể phụ nữ trung bình là 58 kg). Nếu thiết bị được sử dụng ở trẻ em, khuyến nghị 10 kg cho trọng lượng cơ thể.

Xem xét hệ số an toàn 100 lần, liều chuột bằng 19 g/kg. Do đó, một con chuột 25 g thông thường sẽ nhận được 0,485 g.

Các polyme có thể được thử nghiệm ở dạng đĩa. Một đĩa có đường kính không vượt quá khoảng 15 mm và độ dày 2 mm đến 3 mm được khuyến nghị. Tuy nhiên, đối với các vật liệu có mật độ cao, các kích thước này có thể cần phải giảm để tránh tổn thương mô liên quan đến trọng lượng của mẫu. Nhiều mẫu có thể được cấy ghép để đạt được liều mong muốn. Do đó, trong ví dụ trên, hai bộ cấy hình đĩa chứa 0,2 g polyme trên mỗi bộ cấy sẽ được cấy vào mỗi con chuột.

Các mô được đánh giá sẽ bao gồm các mô có liên quan từ danh sách được chỉ định trong OECD 451 hoặc OECD 453, cũng như các mô cấy và các mô lân cận.

Trong những năm gần đây, việc sử dụng động vật biến đổi gen để thử nghiệm khả năng gây ung thư đã được chấp nhận, nhưng chưa được xác nhận cho các trang thiết bị y tế. Xét nghiệm gây ung thư trong các mô hình biến đổi gen có thời gian ngắn hơn (thường là sáu tháng) và cần ít động vật hơn so với xét nghiệm gây ung thư trong thời gian sống hai năm ở loài gặm nhấm. Ngoài thời gian ngắn hơn, những nghiên cứu này còn mang lại lợi ích bổ sung không bị phức tạp bởi hiện tượng phát sinh khối u ở trạng thái rắn. Vì các nghiên cứu mô hình biến đổi gen chỉ kéo dài sáu tháng và cần 8 đến 9 tháng để các khối u ở trạng thái rắn phát triển, hiện tượng này

không phải là một yếu tố gây nhiễu. Mô hình chuột biến đổi gen *rasH2* là mô hình biến đổi gen chính được sử dụng để đánh giá rủi ro gây ung thư của các trang thiết bị y tế.

Do dữ liệu có sẵn hạn chế và thiếu các nghiên cứu xác nhận chính thức với mô hình chuột biến đổi gen *rasH2*, thiết kế nghiên cứu với mô hình này thường bao gồm một kiểm soát dương tính cùng với kiểm soát âm tính.

7 Phép thử độc tính sinh sản và phát triển

7.1 Quy định chung

Trước khi đưa ra quyết định thực hiện các phép thử độc tính sinh sản và phát triển, phải xem xét TCVN 7391-1 (ISO 10993-1). Quyết định thực hiện phép thử phải được chứng minh dựa trên tình trạng đánh giá khả năng sinh sản của quần thể chủ thể về khả năng phơi nhiễm của các mô sinh sản, phôi/thai hoặc cho con bú để thử nghiệm vật liệu hoặc các chất có thể lọc.

Không cần phép thử độc tính sinh sản và phát triển đối với các trang thiết bị y tế có thể phân hủy sinh học hoặc các trang thiết bị y tế có chứa các chất có thể lọc khi có dữ liệu đầy đủ và yên tâm từ các nghiên cứu hấp thụ, chuyển hóa, phân bố và bài tiết cho thấy thiếu phơi nhiễm với các mô liên quan hoặc từ các nghiên cứu độc tính sinh sản và phát triển.

Không yêu cầu phép thử độc tính sinh sản và phát triển khi đánh giá rủi ro độc tính có thể chấp nhận được của trang thiết bị y tế có tính đến thực tế là rủi ro độc tính sinh sản và phát triển đã được giảm thiểu đầy đủ.

7.2 Kế hoạch thử nghiệm

Thử nghiệm sinh sản và phát triển phải được xem xét cho các thiết bị sau:

- các thiết bị tiếp xúc kéo dài hoặc vĩnh viễn với các vật liệu, hoặc sản phẩm phụ xuống cấp hoặc các chất có thể lọc, có khả năng tiếp xúc trực tiếp với các mô sinh sản, phôi/thai hoặc tế bào mầm;
- trang thiết bị y tế tích tụ năng lượng.

Khi xác định xem phép thử độc tính sinh sản của thiết bị có được bảo hành hay không, việc đánh giá rủi ro sẽ giải quyết các yếu tố sau:

- mức độ phơi nhiễm toàn thân từ các hợp chất có thể lọc (nếu thiết bị không tiếp xúc trực tiếp với mô sinh sản);
- đặc điểm vật lý của thiết bị;
- chất chuyển hóa của vật liệu thiết bị;
- kết quả độc tính di truyền.

TCVN 7391-3:2020

Thử nghiệm được chỉ định khi có thông tin không đầy đủ về một hoặc nhiều yếu tố trên và rủi ro này không thể được giảm thiểu thông qua các biện pháp kiểm soát rủi ro khác (ví dụ: thông tin về việc thiếu dữ liệu độc tính sinh sản).

Thử nghiệm phải được tiến hành trên thiết bị thành phẩm hoặc vật liệu thử nghiệm.

Việc sử dụng vật liệu thử nghiệm cụ thể khác với thiết bị thành phẩm phải được chứng minh và ghi lại lý do.

Nếu thử nghiệm được yêu cầu, điều này có thể bắt đầu với OECD 421 để cung cấp thông tin ban đầu về các tác động có thể có đối với sinh sản và/hoặc phát triển. Kết quả dương tính với các phép thử này rất hữu ích cho đánh giá nguy cơ ban đầu và đóng góp vào các quyết định liên quan đến sự cần thiết và thời gian của các phép thử bổ sung.

Nếu các phép thử bổ sung được coi là cần thiết, chúng phải được thực hiện theo OECD 414, OECD 415 hoặc OECD 416, nếu phù hợp.

Có thể bắt đầu với các hệ thống phép thử thích hợp thể hiện rõ sự vắng mặt hoặc hiện diện của độc tính sinh sản theo OECD 414, OECD 415 hoặc OECD 416.

7.3 Chuẩn bị mẫu

Chuẩn bị mẫu phải tuân theo TCVN 7391-12 (ISO 10993-12). Bất cứ khi nào có thể, trang thiết bị y tế phải được thử nghiệm dưới dạng đại diện của trạng thái cuối cùng. Thử nghiệm bổ sung có thể được bảo đảm cho các trạng thái bổ sung của thiết bị, chẳng hạn như thiết bị hoặc vật liệu bảo dưỡng *in situ* (ví dụ: xi măng, chất kết dính và hỗn hợp tiền polyme).

Trong trường hợp các trang thiết bị y tế tích tụ năng lượng, việc phơi nhiễm với toàn bộ cơ thể của động vật là phù hợp. Một bộ số dự đoán của con người đối với các cơ quan sinh sản phải được áp dụng.

Liều cao nhất được sử dụng ở động vật là liều chịu đựng tối đa hoặc bị giới hạn bởi các ràng buộc vật lý của mô hình động vật. Liều này phải được biểu thị bằng bộ số của mức phơi nhiễm tối đa ước tính của con người (tính theo trọng lượng và/hoặc diện tích bề mặt trên mỗi kilogram).

Thử nghiệm *in vivo* phải được thực hiện theo TCVN 7391-2 (ISO 10993-2).

7.4 Phương pháp thử

Đánh giá hiệu quả trên thế hệ thứ nhất (F1) hoặc thậm chí thế hệ thứ hai (F2) phải được thực hiện theo OECD 414, OECD 415 hoặc OECD 416 và OECD 421. Vì các hướng dẫn của OECD không dành cho các trang thiết bị y tế xem xét:

- liều dùng (trong trường hợp trang thiết bị y tế tích tụ năng lượng);
- đường ứng dụng (cấy ghép, tiêm, các đường khác);

- môi trường chiết;
- thời gian phơi nhiễm (mức máu tăng cao trong quá trình hình thành các cơ quan, khi có thể).

CHÚ THÍCH: Tùy thuộc vào mục đích sử dụng của con người và đặc tính vật liệu, các nghiên cứu trước khi sinh/sau khi sinh có thể được chỉ định.

Nếu thông tin có được từ các phép thử khác cho thấy tác động tiềm tàng đối với hệ thống sinh sản đực, thì sau đó phải tiến hành các phép thử thích hợp về độc tính sinh sản của đực.

Gần đây, các hệ thống phép thử sinh sản *in vitro* đã được phát triển. Các hệ thống này có thể hữu ích như một phương pháp thử sàng lọc trước cho độc tính sinh sản và phát triển.

8 Báo cáo thử nghiệm

Nếu có liên quan, báo cáo thử nghiệm phải bao gồm ít nhất các chi tiết sau:

- a) mô tả vật liệu và/hoặc trang thiết bị y tế (ví dụ: thành phần hóa học, xử lý, ổn định và xử lý bề mặt) bao gồm cả mục đích sử dụng của nó;
- b) mô tả và lý do/xác minh các phương pháp thử, điều kiện thử, vật liệu thử, liều thử và quy trình thử nghiệm;
- c) mô tả các phương pháp phân tích bao gồm các giới hạn định lượng;
- d) công bố sự phù hợp với phòng thí nghiệm hiện hành/hợp lệ tốt nhất/thực hành chất lượng, ví dụ Thực hành phòng thí nghiệm tốt (GLP) hoặc TCVN/ISO/IEC 17025, nếu áp dụng;
- e) kết quả thử nghiệm bao gồm tóm tắt;
- f) phương pháp thống kê;
- g) giải thích và thảo luận về kết quả;
- h) thêm chi tiết theo quy định trong hướng dẫn OECD có liên quan hoặc Phụ lục C và Phụ lục D, và ISO/TR 10993-33;
- i) tên và chứng nhận của phòng thử nghiệm;
- j) ngày thử nghiệm;
- k) tên và chữ ký của người chịu trách nhiệm.

Phụ lục A
(tham khảo)

**Hướng dẫn chọn quy trình chuẩn bị mẫu thích hợp
trong thử nghiệm độc tính di truyền**

A.1 Quy định chung

Phụ lục này đưa ra hướng dẫn để lựa chọn quy trình chuẩn bị mẫu thích hợp trong phép thử độc tính di truyền của các trang thiết bị y tế. Trong việc lựa chọn phương pháp, người dùng nên xem xét các đặc tính hóa lý của trang thiết bị y tế và quy trình sản xuất trang thiết bị y tế. Ví dụ, có chứa nhiều polyme trong các trang thiết bị y tế, ngoài polyme tương đối trơ, có trọng lượng phân tử cao, các thành phần khác như monome dư, oligome, chất xúc tác, chất hỗ trợ xử lý, v.v ... Chúng có mặt ở các mức độ khác nhau tùy thuộc vào nguồn nguyên liệu thô, các quy trình sản xuất, và chức năng dự định của phụ gia. Ngoài ra, các loại hóa chất bổ sung có thể được tạo ra trong quá trình sản xuất như làm kín bằng nhiệt, hàn hoặc khử trùng thiết bị. Tất cả những thứ này có thể di chuyển từ thiết bị vào cơ thể con người và phải là đối tượng để đánh giá rủi ro.

Thông tin liên quan đến phân tích rủi ro sinh học có thể có sẵn từ tài liệu và/hoặc nhà sản xuất hoặc nhà cung cấp.

Nếu có đủ thông tin về các đặc tính định tính và định lượng của thiết bị thành phẩm hoặc mô phỏng, bao gồm các vật liệu và các chất hỗ trợ xử lý được sử dụng trong sản xuất thiết bị, không cần phải thử nghiệm.

Để đánh giá nếu có đủ thông tin, người dùng nên đưa vào phân tích của họ như sau:

- Thiết bị thành phẩm có trải qua quy trình sản xuất tương đương (bao gồm khử trùng, nếu áp dụng)?
- Thiết bị có chứa các chất phụ gia và chất gây ô nhiễm tương tự (như chất hỗ trợ xử lý, các monome không phản ứng, chất xúc tác) không?

Để thực hiện đánh giá dựa trên rủi ro theo TCVN 8023 (ISO 14971), quy trình phân tích rủi ro phải bao gồm ba bước sau đây:

- Đặc tính vật liệu/thiết bị.
- Nhận biết nguy cơ.
- Dự đoán rủi ro.

Tuy nhiên, nếu thiếu một số thông tin cần thiết, nên tiến hành thử nghiệm. Các phương pháp thử sinh học bao gồm quy trình chuẩn bị mẫu phải được thiết kế phù hợp cho mục đích xác định các nguy cơ sinh học và ước tính rủi ro của chúng.

Việc lựa chọn chuẩn bị mẫu thích hợp là rất quan trọng để thu được kết quả có liên quan từ các phép thử độc tính di truyền. Chuẩn bị mẫu không phù hợp có thể dẫn đến việc đánh giá thấp rủi ro độc tính di truyền. Ví dụ, việc chiết các polyme bằng nước thường được coi là mô phỏng sự di chuyển *in situ* của chất có thể lọc từ các polyme vào máu. Tuy nhiên, theo Tsuji và cộng sự^[76] đã chứng minh rằng di(ethylhexyl)phthalate (DEHP) không được chiết từ ống mạch máu polyvinyl clorua khi nước được sử dụng làm dung môi chiết. Họ đã chứng minh rằng huyết tương người chiết được lượng DEHP đáng kể và tỷ lệ phần trăm DEHP chiết được với huyết tương người tương tự như quan sát được với 40 % ethanol. Dựa trên nghiên cứu này, Oba và cộng sự^[77] đã thành công trong việc tái tạo các tổn thương ở mắt, xảy ra ở những bệnh nhân chạy thận được điều trị bằng một loại cụ thể của phương pháp thẩm tách acetate bằng cách truyền cho thỏ những dịch chiết thu được từ ethanol 40 %.

A.2 Vật liệu thiết bị

A.2.1 Hóa chất trọng lượng phân tử thấp (LMWC)

LMWC, các chất không phải là polyme có trong các trang thiết bị y tế, có thể xâm nhập màng tế bào, để phản ứng với ADN, gen hoặc nhiễm sắc thể để chúng có thể tạo ra các phản ứng gây nhiễm độc gen (ví dụ như chất kết dính cyanoacrylate), xem A.2.2.1.

A.2.2 Polyme (bao gồm các polyme có trong tự nhiên)

Polyme là một chất hóa học bao gồm các phân tử được đặc trưng bởi chuỗi của một hoặc nhiều loại đơn vị monome và bao gồm phần lớn trọng lượng đơn giản của các phân tử có chứa ít nhất 3 đơn vị monome. Các đơn vị này liên kết cộng hóa trị với ít nhất một đơn vị monome hoặc chất phản ứng khác và bao gồm ít hơn một phần lớn trọng lượng đơn giản của các phân tử có cùng trọng lượng phân tử. Các phân tử như vậy phải được phân bố trên một phạm vi trọng lượng phân tử trong đó sự khác biệt về trọng lượng phân tử chủ yếu là do sự khác biệt về số lượng đơn vị monome.

Các nhóm polyme phổ biến là: polyme tổng hợp không phân hủy (ví dụ: polyetylen, polymethylmethacrylat, silicone); các polyme có trong tự nhiên (ví dụ: cellulose, alginate, gelatin, collagen); và các polyme phân hủy sinh học (ví dụ: poly (axit L-lactic) (PLLA), axit polyglycolic).

A.2.2.1 LMWC có trong các polyme

Vật liệu polyme thường chứa một lượng nhỏ LMWC như chất phụ gia, chất xúc tác, chất hỗ trợ xử lý và các sản phẩm bức xạ. Những LMWC này có thể có khả năng gây độc tính di truyền. Trong trường hợp tiếp xúc xâm nhập, LMWC có thể di chuyển ra khỏi polyme và vào bệnh nhân. Do đó, LMWC trong các polyme nên được đánh giá về rủi ro độc tính di truyền.

TCVN 7391-3:2020

Sự di chuyển LMWC từ thiết bị polyme sang dịch cơ thể được coi là một hiện tượng tương tự như sự di chuyển LMWC từ hộp đựng thức ăn vào thực phẩm. Trong hộp đựng thực phẩm, tốc độ di chuyển được biểu thị bằng:

- hàm số của tổng hàm lượng LMWC trong polyme,
- hệ số khuếch tán của LMWC trong polyme và
- hằng số cân bằng phân vùng của LMWC giữa polyme và thực phẩm (xem Tài liệu tham khảo^[82]).

Do đó, các giá định và phương trình được thực hiện cho các hộp đựng thực phẩm có thể được sử dụng trong các đánh giá rủi ro của LMWC trong các trang thiết bị y tế.

A.2.2.2 Oligome

Oligome là một phân tử polyme chỉ bao gồm một vài đơn vị monome (dimer, trimer, tetramer). Các oligome có thể có trong các polyme và có thể di chuyển ra khỏi polyme. Các oligome với các nhóm hóa học chức năng phản ứng trong cấu trúc của chúng là một mối quan tâm về sức khỏe vì độc tính tiềm tàng của chúng. Năm 1993, cuộc họp chuyên gia OECD lần thứ 3 về polyme^[78] đã kết luận rằng các tham số sau đây cần được xem xét về tác dụng của chúng đối với sức khỏe bệnh nhân khi đưa ra quyết định về polyme:

- chỉ số trung bình MW,
- hàm lượng MW thấp,
- sự có mặt của các nhóm chức năng phản ứng, và
- sự có mặt của kim loại sinh học, là một phần của cấu trúc polyme.

Các nhóm chức năng phản ứng được xác định, ví dụ: như sau: halogenua axit, anhydrid axit, aldehyd, hemiacetals, methylolamides, -amin hoặc -ure, anoxysilan (> C2), allylethers, olefin kết hợp, cyanate, epoxit, imin methacrylates, aziridines, carbodiimides, halosilanes, hydrosilanes, hydrazine, isocyanates, isothiocyanates, alpha hoặc beta lactones, methoxy hoặc ethoxy silanes, vinylsulfones hoặc các hợp chất tương tự (xem Tài liệu tham khảo^[79]).

A.2.2.3 Polyme phân hủy sinh học

Polyme phân hủy sinh học là một loại polyme được thiết kế hoặc được dự đoán một cách hợp lý để làm suy giảm đáng kể, phân hủy hoặc khử polyme, bao gồm cả các polyme có thể phân hủy đáng kể sau khi sản xuất và sử dụng, mặc dù chúng không thực sự có ý định làm như vậy. Đối với các polyme phân hủy sinh học, tổng lượng LMWC trong polyme được giải phóng vào cơ thể. Hầu hết các polyme phân hủy sinh học tương tự như polyester và thường không có các nhóm chức năng phản ứng như được định nghĩa trong báo cáo OECD. LMWC có trong hoặc được thêm vào polyme phân hủy sinh học nên được đánh giá về rủi ro độc tính di truyền.

A.2.3 Vật liệu vô cơ: các mảnh vụn mài mòn từ kim loại, hợp kim và gốm sứ

Số lượng và độc tính di truyền của các ion kim loại được giải phóng từ các vật liệu vô cơ (ví dụ: thép không gỉ, hợp kim titan, hydroxyapatite, tricalcium phosphate, alumina và zirconia) là mối quan tâm về sức khỏe. Ví dụ, ảnh hưởng của nhiễm độc gen *in vivo* đã được nhìn thấy trong các tế bào lympho periprosthetic của bệnh nhân được cấy kim loại trên cấy ghép hông kim loại. Nhiều ion kim loại đóng vai trò điều tiết quan trọng trong cơ thể và vai trò này phụ thuộc vào đặc tính hóa học và trạng thái hóa trị của chúng. Các ion kim loại liên kết với protein trong chất lỏng sinh lý (như máu, bạch huyết và nước tiểu) và có thể phân chia thành các phần khác nhau để phân bố sinh học. Các ion kim loại được nội hóa vào tế bào nơi chúng có thể liên kết với vật liệu hạt nhân và thay đổi tín hiệu tế bào cục bộ, hệ thống hoặc cả hai. Do đó, hồ sơ độc tính di truyền của ion kim loại nên được đánh giá và đánh giá càng nhiều càng tốt dựa trên dữ liệu tài liệu.

A.3 Phương pháp chuẩn bị mẫu

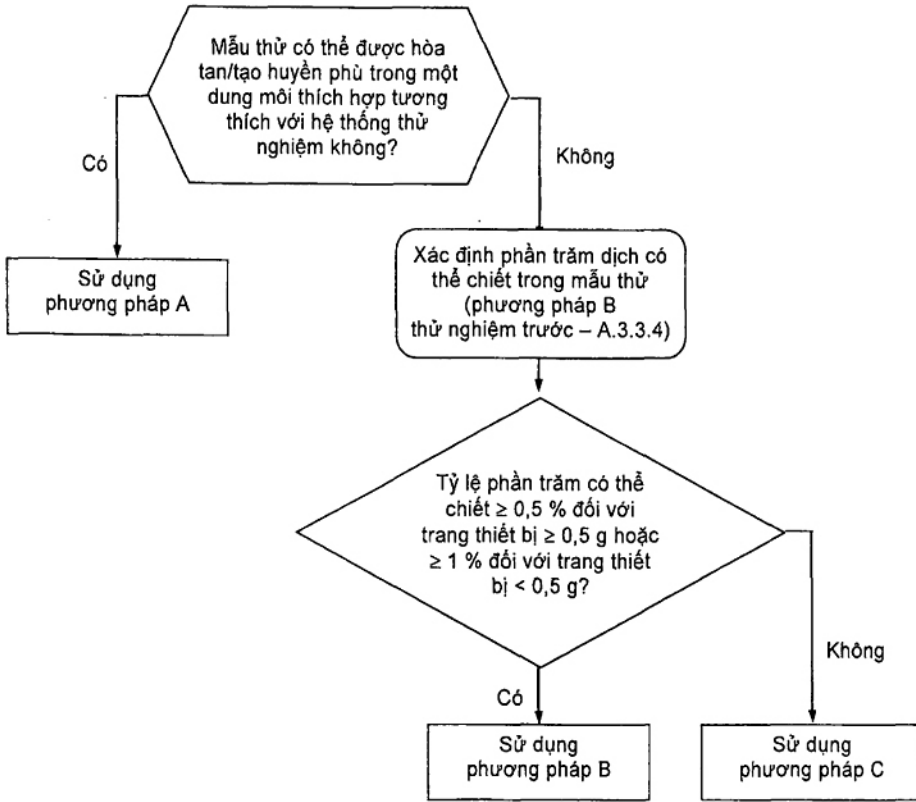
A.3.1 Quy định chung

Thiết kế chuẩn bị mẫu lý tưởng để ước tính rủi ro độc tính di truyền của thiết bị là áp dụng tổng lượng dịch chiết từ toàn bộ thiết bị vào hệ thống thử nghiệm. Tuy nhiên, cách tiếp cận này không thực tế cho các thiết bị lớn hơn. Đối với các thiết bị lớn hơn, một phần mẫu thử được chiết với quy trình chuẩn bị mẫu thích hợp và được áp dụng cho hệ thống thử nghiệm.

Việc lựa chọn một quy trình chuẩn bị mẫu cho vật liệu hoặc thiết bị bất kỳ được sử dụng cho con người đòi hỏi một cách tiếp cận có cấu trúc, xem xét thành phần hóa học và tính chất hóa lý của vật liệu hoặc thiết bị. Việc chuẩn bị mẫu phải tuân theo sơ đồ nhánh cây quyết định trong Hình A.1. Hình này đưa ra biểu đồ quy trình quyết định được sử dụng để chọn phương pháp chiết (Phương pháp A, B hoặc C) cho vật liệu thiết bị trừ khi trang thiết bị y tế hoặc vật liệu trang thiết bị y tế phải được đánh giá theo quy trình chuẩn bị mẫu đặc biệt theo mô tả trong A.4.

Không nên nghi ngờ các dung môi hoặc dung môi chiết được sử dụng gây ra phản ứng hóa học với mẫu thử.

Phương pháp A yêu cầu áp dụng trực tiếp mẫu thử vào hệ thống thử nghiệm và được sử dụng khi mẫu thử có thể được hòa tan hoặc lơ lửng trong dung môi thích hợp tương thích với hệ thống thử nghiệm.



Hình A.1 - Cách tiếp cận có cấu trúc để chọn một quy trình chuẩn bị mẫu

Khi mẫu thử không tan hoặc không thể tạo huyền phù trong dung môi phân cực hoặc không phân cực, Phương pháp B và C, phương pháp chiết, được chọn dựa trên các đặc tính vật lý của vật liệu bao gồm thiết bị. Việc lựa chọn Phương pháp B hoặc C phụ thuộc vào tỷ lệ phần trăm có thể chiết được lấy ra khỏi mẫu thử.

Tỷ lệ phần trăm có thể chiết được (như được báo cáo là phần trăm của lượng cặn so với tổng trọng lượng thiết bị, xem thêm A.3.3.4) với mỗi dung môi nên được báo cáo. Dung môi chiết phổ biến là methanol và acetone.

Methanol tốt hơn trong việc chiết các chất hòa tan trong nước trong khi acetone tốt hơn trong việc chiết các chất hòa tan trong chất béo. Các dịch chiết methanol và acetone được làm bay hơi riêng đến khô để xác định tỷ lệ phần trăm các dịch chiết được rút ra khỏi hệ thống thử nghiệm của mỗi dung môi. Tỷ lệ có thể chiết được với mỗi dung môi nên được báo cáo.

Dung môi bổ sung có thể được sử dụng trong các thử nghiệm sơ bộ cho vật liệu nếu một lý do thích hợp được cung cấp. Nếu sử dụng dung môi dễ bay hơi, những chất này có thể làm giảm vật liệu thử hoặc có thể không chiết được dư lượng hiệu quả từ vật liệu thử.

Bảng A.1 có thể hữu ích trong việc lựa chọn một dung môi thích hợp để chiết các trang thiết bị y tế. Bảng này liệt kê các dung môi chiết phổ biến và hệ số phân chia octanol-nước của chúng, $\log K_{ow}$. Một dung môi có nhiều phân chia $\log K_{ow}$ âm tính trong nước hiệu quả hơn octanol. Một dung môi có $\log K_{ow}$ dương tính nhiều hơn hòa tan trong octanol dễ dàng hơn nước. Việc lựa chọn dung môi nên được xác minh.

Bảng A.1 - Dung môi chiết chung

Dung môi	$\log K_{ow}$
Dimethyl formamid	-1,01
Metanol	-0,74
Ethanol	-0,30
Acetone/2-propanone	-0,24
Dichloromethanea	+1,25
Cloroform ^a	+1,97
Hexane ^a	+3,90
^a Các hóa chất này có thể được kiểm soát để giải quyết các mối lo ngại về an toàn.	

A.3.2 Phương pháp A

Mẫu thử được hòa tan hoặc tạo huyền phù (hoặc hòa tan một phần) trong dung môi. Thể tích cuối cùng của việc chuẩn bị mẫu thử trong hệ thống phép thử động vật có vú *in vitro* không được vượt quá 10 %, nếu vật phẩm thử được hòa tan trong dung môi có nước như nước hoặc nước muối. Nồng độ tối đa được thử nghiệm trên hệ thống phép thử động vật có vú *in vitro* là 5 mg/mL. Trong thử nghiệm đột biến ngược đối với vi khuẩn, nên áp dụng 100 µl chế phẩm mẫu thử cho một đĩa thạch. Nồng độ tối đa cho phép thử đột biến ngược đối với vi khuẩn là 5 mg/đĩa.

Lựa chọn liều nên dựa trên hồ sơ độc tính trong bối cảnh phép thử độc tính di truyền. Trong một số trường hợp, phép thử phạm vi liều sơ bộ có thể hữu ích để đạt được lựa chọn liều thích hợp. Cũng có thể thích hợp để dùng liều ở một mức độ tối đa duy nhất nếu không mong muốn độc tính. Xem hướng dẫn để đánh giá liều trong từng phép thử trong ISO/TR 10993-33.

Đối với thử nghiệm *in vivo*, thể tích chuẩn bị mẫu thử tối đa có thể được thực hiện bằng cách tiêm một lần thường là 20 mL/kg trọng lượng cơ thể đối với chuột và 10 mL/kg đối với chuột cống. Đối

TCVN 7391-3:2020

với các chế phẩm mẫu thử không độc hại, mức liều tối đa là 2 000 mg/kg trọng lượng cơ thể. Đối với các chế phẩm mẫu thử độc hại, nên tiến hành nghiên cứu tìm phạm vi liều trước khi nghiên cứu *in vivo* chính để xác định độc tính chế phẩm mẫu thử và đặt mức liều cho nghiên cứu chính.

Nếu có thể, dữ liệu từ các nghiên cứu độc tính cấp tính có thể được sử dụng do lý do phúc lợi động vật.

Người dùng được tham khảo ISO/TR 10993-33 để biết chi tiết.

Các nguyên tắc được nêu trong Tài liệu tham khảo^[107] có thể được sử dụng để hướng dẫn các giải pháp liều cao nhất.

A.3.3 Phương pháp B

A.3.3.1 Quy định chung

Thử nghiệm trước theo quy trình chuẩn bị mẫu thử (xem A.3.3.2) và quy trình chiết (xem A.3.3.3) nên được thực hiện để chọn phương thức B hoặc phương pháp C.

Phương pháp B được chọn nếu tỷ lệ phần trăm có thể chiết thu được trong thử nghiệm trước đáp ứng các tiêu chí sau:

- Đối với các thiết bị có khối lượng < 0,5 g, chẳng hạn như kính áp tròng hoặc kính nội nhãn, nên sử dụng phương pháp B nếu tỷ lệ phần trăm có thể chiết trong mẫu thử là ≥ 1 %.
- Đối với các thiết bị có khối lượng $\geq 0,5$ g, nên sử dụng Phương pháp B nếu tỷ lệ phần trăm có thể chiết trong mẫu thử là $\geq 0,5$ %.

Nếu tỷ lệ phần trăm có thể chiết không đáp ứng các tiêu chí trên, phần chiết phải được chuẩn bị bằng Phương pháp C.

A.3.3.2 Chuẩn bị mẫu thử

Mẫu thử được ngâm trong tá dược lỏng chiết hữu cơ dễ bay hơi, chiết cạn từ mẫu thử nhưng không làm tan mẫu thử. Nếu sự xuất hiện hoặc trọng lượng của mẫu thử xác nhận sự xuống cấp một phần, sử dụng Phương pháp C. Hai hoặc nhiều dung môi được thử nghiệm để xác định dung môi nào chiết được phần trăm chiết cao nhất từ mẫu thử (xem A.3.3.3 và A.3.3.4). Dung môi chiết phổ biến là methanol và acetone. Cặn mẫu thử đã được chiết, đã bay hơi được hòa tan hoặc lơ lửng trong dung môi tương thích với hệ thống phép thử độc tính di truyền. Thể tích cuối cùng của dung môi hữu cơ hoặc dung dịch nước trong nuôi cấy không được vượt quá 1 % (hữu cơ) và 10 % (dung dịch nước), trong phép thử sai lệch nhiễm sắc thể hoặc phép thử u lympho chuột. Trong thử nghiệm đột biến vi khuẩn, 100 μ l dung dịch dư/huyền phù nên được áp dụng cho một đĩa thạch. Nồng độ tối đa được thử nghiệm trong phép thử sai lệch nhiễm sắc thể *in vitro* hoặc phép thử u lympho chuột *in vitro* là 5 mg/mL. Nồng độ tối đa cho phép thử đột biến ngược đối với vi khuẩn là 5 mg/đĩa.

Quy trình chiết mẫu được nêu trong A.3.3.3. Xem Tài liệu tham khảo.^[86]

Đối với thử nghiệm *in vivo*, cặn mẫu thử đã được chiết và đã bay hơi được hòa tan hoặc lơ lửng trong các tá dược lỏng tương thích với hệ thống thử nghiệm. Việc lựa chọn liều cao nhất và đường dùng giống như trong Phương pháp A.

Các nguyên tắc được nêu trong Tài liệu tham khảo^[107] có thể được sử dụng để hướng dẫn các giải pháp liều cao nhất.

A.3.3.3 Quy trình

- Cắt một lượng mẫu thử thích hợp thành từng miếng nhỏ và đặt chúng vào hộp đựng bằng thủy tinh cùng với tá dược lỏng chiết. Nên sử dụng tỷ lệ 1 g đến 10 ml hoặc thể tích đủ để ngâm mẫu thử. Nếu không thể cắt mẫu thử, sử dụng thể tích đủ để che mẫu thử, tốt nhất là sử dụng tỷ lệ từ 1 g đến 10 ml.

CHÚ THÍCH: Chi tiết về việc chiết vật liệu hấp thụ được bao gồm trong TCVN 7391-12 (ISO 10993-12).

- Chiết mẫu thử trong (24 ± 2) h ở nhiệt độ phòng với khuấy trộn không đổi.
- Sau khi chiết, lọc dịch chiết qua bộ lọc liên kết thấp và kháng hóa chất để loại bỏ mẫu thử.
- Đổ dịch chiết vào bình hình quả lê có khối lượng m_1 không đổi đã biết và làm bay hơi dung môi chiết trong dịch chiết đến khô hoặc đến khối lượng không đổi bằng thiết bị cô đặc áp suất giảm ở ≤ 30 °C. Xác định khối lượng của bình sau khi bay hơi m_2 .
- Tính tỷ lệ phần trăm của dịch chiết.
- Một phần của cặn có thể được sử dụng để kiểm tra độ hòa tan/tính đồng nhất trong các dung môi tương thích với hệ thống thử nghiệm.
- Cả dịch chiết và dung dịch định lượng đều không được đun nóng để tránh thay đổi hóa học của cặn hoặc mất các hợp chất dễ bay hơi.

CHÚ THÍCH: Phương pháp chiết toàn bộ Soxhlet có thể được coi là phương pháp thay thế.

- Sự bay hơi của dịch chiết sau khi chiết không được áp dụng cho các trường hợp khi cặn nghi ngờ trong thiết bị rất dễ bay hơi (ví dụ: ethylene oxide, monome acrylate trọng lượng phân tử thấp).
- Để chuẩn bị mẫu theo phương pháp B, cả hai dịch chiết từ mẫu thử phải được sử dụng riêng biệt nếu các tiêu chí cho phương pháp B được đáp ứng. Nếu chỉ có một dịch chiết từ mẫu thử đáp ứng các tiêu chí thì chỉ có dịch chiết này được sử dụng để thử nghiệm độc tính di truyền. Các dịch chiết khác không được sử dụng.

TCVN 7391-3:2020

- Hòa tan hoặc ngưng cặn của dịch chiết trong dung môi trên cơ sở tối đa hóa nồng độ thử cho hệ thống thử thích hợp. Dung môi này có thể được xác định, ví dụ sử dụng cặn thu được trong thử nghiệm trước của phương pháp B. Sử dụng dung dịch này trong vòng 24 h.

A.3.3.4 Biểu thị kết quả

Tính khối lượng của cặn được chiết, W_R , trong bình hình quả lê bằng cách xác định sự thay đổi khối lượng của bình theo Công thức (A.1):

$$W_R = m_2 - m_1 \quad (A.1)$$

trong đó:

m_1 là khối lượng của bình rỗng;

m_2 là khối lượng của bình sau khi bay hơi dịch chiết.

Tính tỷ lệ phần trăm của dịch có thể chiết bằng cách xác định tỷ lệ khối lượng vật liệu có thể chiết với khối lượng của mẫu thử và nhân với 100 bằng cách sử dụng Công thức (A.2).

$$\%_e = \frac{W_R}{m_3} \times 100 \quad (A.2)$$

trong đó:

$\%_e$ là tỷ lệ phần trăm dịch có thể chiết;

m_3 là khối lượng của mẫu thử trước khi chiết.

Ghi lại và báo cáo tỷ lệ phần trăm dịch có thể chiết cho mỗi dung môi.

Báo cáo nghiên cứu nên bao gồm cơ sở để lựa chọn dung môi chiết và tỷ lệ phần trăm cặn cho mỗi dung môi được thử.

A.3.4 Phương pháp C

A.3.4.1 Quy định chung

Phương pháp C là phương pháp chiết sử dụng mô phỏng tương tự như phương pháp được mô tả trong TCVN 7391-12 (ISO 10993-12).

Mẫu thử được chiết trong dung môi/tá được lỏng tương thích với hệ thống thử. Việc chuẩn bị mẫu thử được áp dụng cho hệ thống thử nghiệm. Sử dụng dịch chiết này trong vòng 24 h.

A.3.4.2 Quy trình

A.3.4.2.1 Đối với xét nghiệm đột biến ngược đối với vi khuẩn, mẫu thử được cắt thành các mảnh nhỏ, nếu có thể và được chiết theo quy định trong TCVN 7391-12 (ISO 10993-12).

A.3.4.2.2 Đối với các phép thử tế bào động vật có vú *in vitro*, mẫu thử được cắt thành các mảnh nhỏ, nếu có thể và được chiết theo quy định trong TCVN 7391-12 (ISO 10993-12).

A.3.4.2.3 Nếu môi trường nuôi cấy không có huyết thanh được sử dụng làm dung môi phân cực để chiết, dịch chiết thử nghiệm được thử dưới dạng nguyên chất sau khi bổ sung bằng huyết thanh trước khi định lượng tế bào. Dịch chiết thử nghiệm trong môi trường nuôi cấy tế bào với huyết thanh (dưới dạng dung môi không phân cực) được thử nghiệm dưới dạng dịch chiết nguyên chất. Nếu nước muối được sử dụng làm dung môi phân cực để chiết, dịch chiết thử nghiệm nên được pha loãng đến 10 % với môi trường nuôi cấy tế bào bổ sung huyết thanh trước khi định lượng tế bào. Dịch chiết thử nghiệm DMSO hoặc Ethanol nên được thử nghiệm ở mức 1 % sau khi pha loãng với môi trường nuôi cấy bổ sung huyết thanh. Đối với các dịch chiết phép thử độc tính tế bào, giới hạn độc tính tế bào chấp nhận được đối với các phép thử nên được xem xét để lựa chọn liều chiết thử nghiệm thích hợp.

CHÚ THÍCH 1: Nhiệt độ (37 ± 1) °C trong (48 ± 2) h cũng có thể được chấp nhận nếu môi trường nuôi cấy tế bào có hoặc không có huyết thanh được sử dụng để chiết.

A.3.4.2.4 Đối với thử nghiệm *in vivo*, mẫu thử được cắt thành các mảnh nhỏ, nếu có thể và được chiết theo quy định trong tiêu chuẩn này.

A.3.4.2.5 Dịch chiết thử nghiệm được tiêm truyền tĩnh mạch (nước muối) hoặc tiêm trong màng bụng (kỵ nước) cho động vật tùy thuộc vào dung môi được sử dụng. Thể tích không được vượt quá 20 mL/kg trọng lượng cơ thể đối với chuột và 10 mL/kg đối với chuột nhắt.

A.4 Hướng dẫn bổ sung về quy trình chuẩn bị mẫu đặc biệt

A.4.1 Polime phân hủy sinh học

Đối với các thiết bị được chế tạo bằng polyme phân hủy sinh học, có thể sử dụng Phương pháp B đã sửa đổi để chuẩn bị vật liệu thử nghiệm vì lo ngại rằng tổng LMWC được giải phóng ở bệnh nhân. Sử dụng dung môi thích hợp để hòa tan và lọc lại kết tủa, giải pháp kết quả để loại bỏ kết tủa. Báo cáo các kết tủa trong giấy lọc sau khi lọc. Làm bay hơi các dung môi từ dịch lọc (ví dụ: thiết bị bay hơi quay có thể được sử dụng). Ghi lại lượng cặn được tạo ra.

Hòa tan hoặc ngưng cặn trong dung môi/tá được lỏng tương thích với hệ thống thử nghiệm và áp dụng cặn vào hệ thống thử nghiệm.

A.4.2 Vật liệu vô cơ: các mảnh vụn mài mòn từ kim loại, hợp kim và gốm sứ

Khi đánh giá độc tính di truyền của các thiết bị làm từ vật liệu vô cơ như khớp hông giả, mối quan tâm chính là khả năng gây độc tính gen của các ion kim loại được giải phóng từ các mảnh vụn

TCVN 7391-3:2020

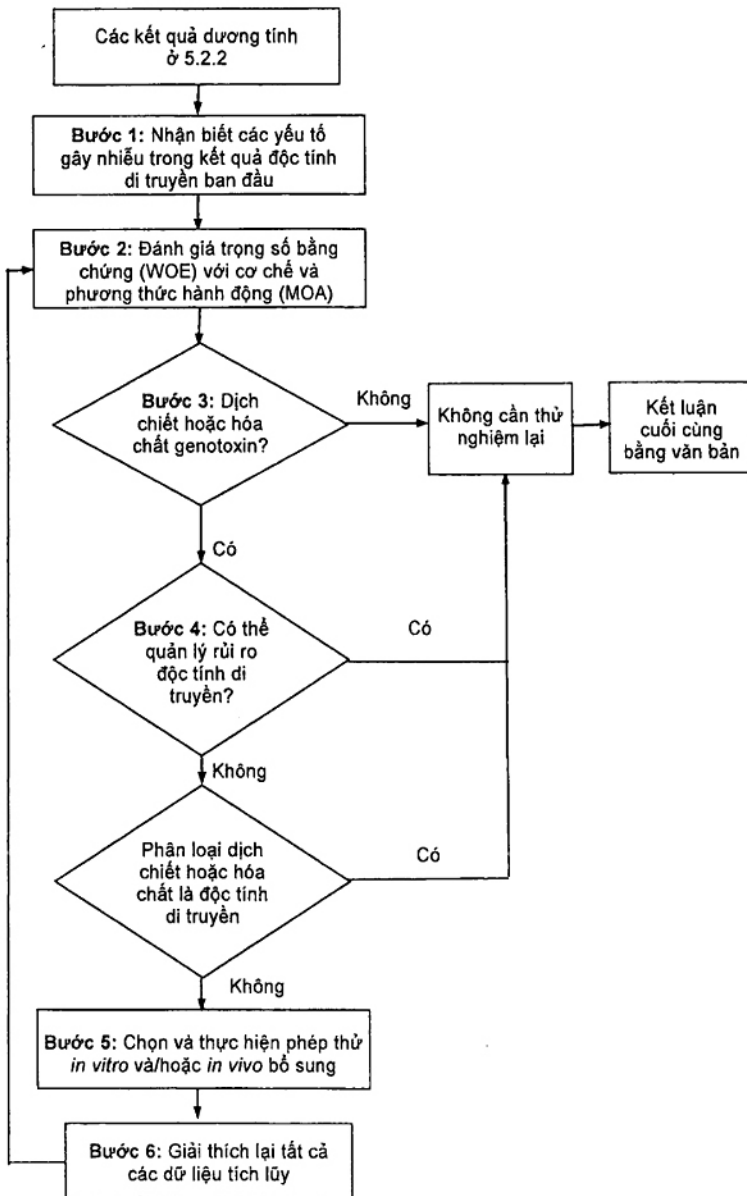
và/hoặc do ăn mòn trong quá trình phơi nhiễm lâm sàng và số lượng của chúng. Vì các phép thử trong tiêu chuẩn này được thiết kế để đo khả năng gây độc tính gen của dịch chiết thiết bị cuối cùng (trong dung dịch) và không phải là hạt, nên các phương pháp thay thế để đánh giá khả năng gây độc tính gen của mảnh vụn hoặc hạt sẽ là cần thiết.

A.4.3 LMWC

Khi mẫu thử bao gồm một hoặc nhiều LMWC, rủi ro độc tính di truyền có thể được đánh giá bằng cách áp dụng dung dịch/hệ thống huyền phù của nó trong một tá dược lỏng tương thích với hệ thống thử nghiệm. Áp dụng phương pháp A.

Phụ lục B
(tham khảo)

Lưu đồ để đánh giá theo dõi



Hình B.1 - Lưu đồ để đánh giá theo dõi

Phụ lục C

(tham khảo)

Cơ sở của hệ thống thử nghiệm

C.1 Phép thử độc tính di truyền

Chức năng chính của phép thử độc tính di truyền là nghiên cứu, sử dụng các tế bào hoặc sinh vật thử nghiệm, những rủi ro của sự thay đổi di truyền tế bào mầm và tế bào soma. Dữ liệu khoa học thường ủng hộ giả thuyết rằng tổn thương ADN trong các tế bào soma là một sự kiện quan trọng trong sự khởi đầu của bệnh ung thư. Do đó, một số phép thử về tổn thương ADN rất hữu ích cho việc nghiên cứu hoạt tính gây ung thư giả định.

Trong thử nghiệm độc học cổ điển, trong khi một vài thông số hoặc điểm cuối thích hợp có thể được quan sát trong một thiết kế thực nghiệm, thì điều này lại không đúng trong độc tính di truyền. Tính đa dạng của các điểm cuối di truyền thường cản trở sự phát hiện nhiều điểm cuối di truyền trong hệ thống từng phép thử.

Khoảng 15 phép thử khác nhau được trích dẫn trong hướng dẫn thử nghiệm. Việc lựa chọn phép thử phù hợp nhất trong số này để đáp ứng một yêu cầu cụ thể được điều chỉnh bởi một số yếu tố. Các yếu tố này bao gồm loại thay đổi di truyền mà phép thử được yêu cầu để phát hiện hoặc khả năng trao đổi chất của hệ thống thử.

Cần nhấn mạnh rằng không có thỏa thuận quốc tế nào về sự kết hợp tốt nhất của các phép thử cho một mục đích cụ thể, mặc dù đã có những nỗ lực để hài hòa việc lựa chọn các phép thử phù hợp nhất. Cũng có thể hữu ích khi lưu ý rằng có các phép thử gây đột biến khác đang được sử dụng hoặc đang phát triển, mặc dù không có Hướng dẫn của OECD. Cần lưu ý đến thỏa thuận ICH/S2B hiện hành đối với dược phẩm.

Các hóa chất tương tác với ADN gây ra các tổn thương sau ảnh hưởng của các quá trình sửa đổi khác nhau, điều đó có thể dẫn đến những thay đổi di truyền ở mức độ gen, ví dụ: các đột biến gen hoặc đột biến điểm, các vùng mất đoạn nhỏ của gen, tái tổ hợp gián phân hoặc các thay đổi khác nhau trên nhiễm sắc thể có thể nhìn thấy dưới kính hiển vi và các phép thử có sẵn để nghiên cứu từng sự kiện này.

Tất nhiên, các phép thử ngắn hạn hiện hành không thể sao chép tất cả các giai đoạn trong quá trình gây ung thư và thường được giả định chỉ phát hiện sự kiện dẫn đến pha khởi đầu, nghĩa là khả năng gây đột biến hoặc tổn thương clastogen. Chính vì vậy, giá trị chính của các quy trình này nằm trong khả năng nhận biết các chất có thể, trong điều kiện phơi nhiễm nhất định, hoặc là gây ung thư theo cơ chế chủ yếu là nhiễm độc gen hoặc gây ra pha khởi đầu của quá trình gây ung thư. Rõ ràng, từ sự phức tạp của quá trình gây ung thư so với sự đơn giản tương đối của các

phép thử ngắn hạn, mặc dù chúng cung cấp thông tin định tính hữu ích, cần phải chú ý khi giải thích về hoạt tính gây ung thư.

Do không có phép thử đơn lẻ nào chứng minh được khả năng phát hiện các chất gây đột biến và các chất gây ung thư ở động vật có vú với độ chụm và độ tái lập chấp nhận được, nên thực hành khoa học thường áp dụng cho các phép thử này trong “các viên pin”. Thông tin ban đầu về khả năng gây đột biến của một chất có thể nhận được bằng cách sử dụng các phép thử đo các đột biến gen và phá hủy nhiễm sắc thể. Do các quy trình thử đơn lẻ cần để nghiên cứu các điểm cuối này, nên phép thử cần có một bộ pin.

Nếu có thêm thông tin liên quan, chẳng hạn như Hấp thụ, Phân bố, Chuyển hóa và Bài tiết (ADME) chỉ ra rằng chất có thể lọc được tại các cơ quan cụ thể, nên xem xét phép thử *in vivo* về độc tính di truyền. Sự lựa chọn phép thử *in vivo* để thực hiện sẽ bị ảnh hưởng bởi các vị trí mà các chất có thể lọc đang tích lũy. Trong nhiều trường hợp, một phép thử *in vivo* đối với tổn thương nhiễm sắc thể trong các tế bào tạo máu của loài gặm nhấm sẽ là phù hợp. Trong một số trường hợp, có thể chỉ định các phép thử cụ thể tại chỗ hoặc các phép thử cụ thể điểm cuối di truyền. Trong hầu hết các trường hợp, các thử nghiệm này không có các thủ tục được quốc tế công nhận. Đối với phần lớn các trang thiết bị y tế và/hoặc vật liệu mà phép thử độc tính di truyền được coi là cần thiết, bộ thử nghiệm *in vitro* tiêu chuẩn là đủ để cung cấp bằng chứng về tiềm năng gây độc tính di truyền của mẫu thử.

C.2 Phép thử khả năng gây ung thư

Mục tiêu của nghiên cứu khả năng gây ung thư trong thời gian dài là quan sát các động vật thử, trong trong một phần quãng đời tồn tại của chúng, qua sự phát triển các tổn thương khối u, trong hoặc sau khi phơi nhiễm với các liều thử nghiệm khác nhau theo một đường thích hợp. Một phép thử như vậy yêu cầu phải lập kế hoạch cẩn thận và lập thành văn bản thiết kế thực nghiệm (xem Phụ lục E), phân tích bệnh lý học với chất lượng cao và phân tích thống kê một cách chính xác.

C.3 Phép thử độc tính sinh sản/phát triển

Các phép thử độc tính sinh sản bao gồm các lĩnh vực sinh sản, khả năng sinh sản và hình thành phôi thai. Khả năng sinh sản có thể bị tác động ở cả đực lẫn cái và các ảnh hưởng có thể từ giảm nhẹ khả năng sinh sản đến vô sinh. Ảnh hưởng độc hại đối với phôi thai hoặc thai nhi đang phát triển có thể ảnh hưởng đến sức khỏe của con cái.

Độc tính gây quái thai liên quan đến các tác động bất lợi của một chất đối với phôi thai và bào thai đang phát triển. Độc tính sinh sản rất quan trọng vì nó có ảnh hưởng quan trọng đến sức khỏe của con người. Các kỹ thuật thử nghiệm đang phát triển và khái niệm về các phép thử kết hợp, bao gồm tất cả các khía cạnh của độc tính sinh sản đang có nhiều hứa hẹn.

Phụ lục D
(tham khảo)

Hệ thống thử nghiệm biến đổi tế bào

Các mô hình của loài gặm nhấm *in vivo* được sử dụng để nghiên cứu thực nghiệm về rủi ro gây ung thư của hóa chất đối với con người. Tuy nhiên, phép thử gây ung thư của loài gặm nhấm rất tốn kém và mất thời gian. Một số lựa chọn thay thế *in vitro* cho phương pháp dựa trên động vật đã được phát triển. Trong số các phương pháp này, các xét nghiệm biến đổi tế bào sao chép một số giai đoạn gây ung thư đa nhân *in vivo*, đã được đề xuất để dự đoán khả năng gây ung thư của hóa chất.

So với các phép thử *in vivo*, phép thử biến đổi tế bào *in vitro* nhanh, hiệu quả về chi phí và cung cấp các biện pháp sàng lọc ban đầu về khả năng gây ung thư. Biến đổi tế bào đã được định nghĩa là sự cảm ứng của một số thay đổi kiểu hình trong các tế bào nuôi cấy là đặc điểm của các tế bào gây ung thư. Những thay đổi kiểu hình này có thể được gây ra bằng cách phơi nhiễm các tế bào động vật có vú với các chất gây ung thư. Các tế bào biến đổi đã có được các đặc điểm của các tế bào ác tính có khả năng gây ra các khối u ở động vật nhạy cảm. Các tế bào biến đổi *in vitro* biểu hiện những thay đổi hình thái liên quan đến khối u. Hiện tượng biến đổi tế bào hình thái này bao gồm những thay đổi trong hành vi và kiểm soát sinh trưởng của các tế bào nuôi cấy, chẳng hạn như thay đổi hình thái tế bào, quy luật rối loạn sinh trưởng của khuẩn lạc và việc thu nhận sinh trưởng khu trú không phụ thuộc.

Xét nghiệm biến đổi tế bào phôi chuột Syria hamster (SHE) kể từ đó đã được mô tả là phép thử ngắn hạn nhất dự đoán đối với các chất gây ung thư của loài gặm nhấm. Schectman^[34] mô tả phương pháp thử biến đổi tế bào của loài gặm nhấm đã thay đổi theo thời gian để dẫn đến một phép thử tế bào SHE có khả năng tái lập cao hơn các phương pháp trước đó. Các phép thử biến đổi tế bào cũng có thể phát hiện một số chất gây ung thư không biến đổi gen là một lợi thế đặc biệt so với các phép thử độc tính di truyền. Tuy nhiên, các thử nghiệm biến đổi tế bào là khó khăn về mặt kỹ thuật và không được hiểu rõ về mặt cơ học.

Ngoài ra, phép thử biến đổi tế bào hai giai đoạn trong các tế bào Balb/c 3T3 hoặc trong các tế bào SHE dường như có khả năng hữu ích không chỉ để phát hiện các hợp chất gây ra sự biến đổi tế bào mà còn cả các chất kích thích khối u. Biến đổi tế bào hình thái đã được chứng minh là phát sinh từ đột biến điểm, tổn thương nhiễm sắc thể, vô tính và các ảnh hưởng khác liên quan đến sự tăng sinh tế bào. Tuy nhiên, do có nhiều cơ chế mà các chất gây ung thư không gây độc tính di truyền có thể hoạt động, và đặc biệt là khi một số tác động là đặc hiệu mô, không chắc rằng sự kết hợp giữa phép thử này và một tác nhân đối với các tác nhân vô căn sẽ đủ để phát hiện tất cả các loại không chất gây ung thư độc tính di truyền. Do đó, để tăng phổ các chất gây ung thư

không biến đổi gen có thể được phát hiện *in vitro*, cần phải phát triển một loạt các phép thử liên quan đến việc phát hiện các điểm cuối chính mà các tác nhân này hoạt động.

Hướng dẫn và xem xét cho thử nghiệm biến đổi tế bào *in vitro* được đưa ra trong Tài liệu tham khảo^[13] và ^[14]

Phụ lục E

(quy định)

Xem xét các nghiên cứu khả năng gây ung thư được thực hiện như các nghiên cứu cấy ghép

E.1 Khả năng gây ung thư ngoài cơ thể

Các khối u gây ra bởi cấy ghép được biết đến trong các thực nghiệm sử dụng chuột cống và hiện tượng này được gọi là "chất gây ung thư ngoài cơ thể" hay "chất gây ung thư trạng thái rắn". Hiện tượng này được tóm tắt như sau:

Các khối u thường phát triển xung quanh hoặc gần một mô cấy với tần số phụ thuộc vào một số yếu tố:

- Kích cỡ cấy ghép (cấy ghép lớn thường tạo ra nhiều sarcoma hơn so với cấy ghép nhỏ).
- Hình dạng của khối u.
- Độ mịn của khối u (những loại có bề mặt gồ ghề ít gây ung thư hơn những loại có bề mặt nhẵn).
- Tính liên tục của diện tích bề mặt (lỗ hoặc lỗ chân lông trong mô cấy càng lớn thì tỷ lệ khối u càng thấp).
- Đối với một số vật liệu nhất định, độ dày của chúng (cấy ghép dày hơn tạo ra nhiều sarcoma hơn).
- Khoảng thời gian cấy ghép vẫn còn trong mô.

Hầu hết các vật liệu tạo ra các khối u như một màng hoặc tấm sẽ tạo ra ít hơn hoặc không có khối u khi được cấy dưới dạng bột, sợi hoặc vật liệu xốp. Xem Tài liệu tham khảo^[37] và ^[38].

Các khối u do hiện tượng này đầu tiên bắt đầu được phát hiện sau 8 tháng đến 9 tháng sau khi cấy ghép. Tỷ lệ mắc bệnh tiếp tục tăng sau thời gian trễ này.

Mặt khác, nhiều báo cáo cho thấy sự khác biệt về tỷ lệ hình thành khối u giữa các vật liệu khác nhau có hình dạng và kích thước tương tự sử dụng cùng một giao thức thực nghiệm trên động vật.

Những hiểu biết cơ học đã được tóm tắt trong một chuyên khảo IARC. Xem Tài liệu tham khảo^[36] ^[37] và ^[38].

E.2 Xem xét phúc lợi động vật

Việc tiến hành các nghiên cứu khả năng gây ung thư bằng cách cấy ghép đòi hỏi các quy trình xâm nhập bằng phẫu thuật trên một số lượng lớn cả động vật thử nghiệm và động vật đối chứng (vận hành giả).

Phụ lục F
(tham khảo)

Phép thử *in vitro* cho độc tính phôi

Trong lĩnh vực độc tính phát triển, có nhiều phương án thay thế cho toàn bộ thử nghiệm trên động vật. Trong 30 năm qua, một loạt các thử nghiệm *in vitro* đã được phát triển từ nuôi cấy tế bào, mô và cơ quan đến nuôi cấy toàn bộ phôi. Để phù hợp với các khuyến nghị của hội thảo ECVAM về độc tính sinh sản, xem Tài liệu tham khảo^[87], ECVAM đã khởi xướng và tài trợ cho một nghiên cứu kiểm chứng về ba phép thử độc tính phôi *in vitro*. Trong hai thử nghiệm này, động vật trong phòng thí nghiệm mang thai được sử dụng để lấy mô phôi - hoặc là tế bào phôi chính trong khối lượng vi mô chuột (MM), xem thử nghiệm trong Tài liệu tham khảo^[88] hoặc phôi trong phép thử nuôi cấy toàn bộ phôi chuột (WEC), xem Tài liệu tham khảo^{[89] [90] và [91] [92]}. Ngược lại, trong thử nghiệm tế bào gốc phôi, xem Tài liệu tham khảo^{[92] [93] [94] và [95]} một dòng tế bào gốc phôi chuột vĩnh viễn (EST) được sử dụng. Mục tiêu chính của nghiên cứu đánh giá xác nhận là đánh giá hiệu quả của ba thử nghiệm *in vitro* trong việc phân biệt giữa độc tố không độc phôi, độc hại phôi và các hợp chất độc hại mạnh của phôi. Tất cả ba phép thử độc tính phôi *in vitro* đều được chứng minh là có thể áp dụng để thử nghiệm một nhóm hóa chất đa dạng có tiềm năng độc hại phôi khác nhau, xem Tài liệu tham khảo^[96]. Các kết quả nhận được trong thử nghiệm mù về giai đoạn xác định của nghiên cứu đánh giá xác nhận ECVAM là có thể tái tạo, cả trong và giữa các phòng thí nghiệm, và sự phù hợp giữa các tiềm năng độc hại của phôi nhận được từ dữ liệu *in vitro* và từ dữ liệu *in vivo* đều tốt cho EST và thử nghiệm WEC (với một mô hình dự đoán [PM]) và đủ cho thử nghiệm MM và thử nghiệm WEC (với một PM khác), theo tiêu chí hiệu suất (Bảng F.1) được xác định bởi Nhóm quản lý trước khi xác thực chính thức nghiên cứu, xem Tài liệu tham khảo^[96]. Một bản tóm tắt so sánh các phân loại *in vitro* với phân loại *in vivo* dựa trên 14 hóa chất được sử dụng trong nghiên cứu đánh giá xác nhận được đưa ra trong Bảng F.2. Một báo cáo tóm tắt về kết quả của nghiên cứu đánh giá xác nhận ECVAM và, ngoài ra, một báo cáo về việc lựa chọn hóa chất phép thử và ba nghiên cứu chi tiết về hiệu suất thống kê sinh học của từng phép thử độc tính phôi *in vitro* đã được công bố, xem Tài liệu tham khảo^{[96] [97] [98] [99] và [100]}.

Ủy ban tư vấn khoa học ECVAM (ESAC) đã kết luận từ các kết quả rằng ba phép thử độc tính phôi *in vitro* đã được đánh giá xác nhận đầy đủ và có thể được áp dụng để đánh giá tiềm năng độc tính phôi của thuốc và các hóa chất khác, xem Tài liệu tham khảo^[101]. Hơn nữa, ESAC khuyến nghị thành lập một hội thảo với mục đích tạo ra một tài liệu hướng dẫn về khả năng áp dụng của ba phương pháp phép thử có giá trị khoa học trong bối cảnh thử nghiệm độc tính sinh sản. Do đó, ECVAM và ZEBET (Trung tâm Tài liệu và Đánh giá các Giải pháp Thay thế cho Thử nghiệm Động vật), do đó, đã tổ chức một hội thảo về độc tính phôi thứ hai để đánh giá thêm các

ứng dụng thực tế của ba thử nghiệm độc tính phôi *in vitro*. Kết quả của hội thảo này đã được công bố, xem Tài liệu tham khảo^[102].

Bảng F.1 - Tiêu chí được xác định bởi nhóm quản lý của nghiên cứu để đánh giá hiệu suất thử nghiệm

Tiêu chí	Hiệu suất
Tinh cở	33 %
Đủ	≥ 65 %
Tốt	≥ 75 %
Xuất sắc	≥ 85 %

Bảng F.2 - Tóm tắt các kết quả phân loại (tất cả dữ liệu^[88])

Phân loại	EST	MM	WEC	
			PM1	PM2
Dự đoán (không độc phôi)	72 %	57 %	56 %	70 %
Dự đoán (độc phôi yếu)	70 %	71 %	75 %	76 %
Dự đoán (độc phôi mạnh)	100 %	100 %	79 %	100 %
Chính xác (không độc phôi)	70 %	80 %	70 %	80 %
Độ chính xác (yếu phôi độc)	83 %	60 %	45 %	65 %
Chính xác (độc phôi mạnh)	81 %	69 %	94 %	100 %
Độ chính xác	78 %	70 %	68 %	80 %

Thư mục tài liệu tham khảo

Tài liệu chung

- [1] OECD 474, *Mammalian Erythrocyte Micronucleus Test* (Phép thử vi lượng hồng cầu động vật có vú)
- [2] OECD 475, *Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test* (Thử nghiệm nhiễm sắc thể tủy xương động vật có vú)
- [3] OECD 478, *Genetic Toxicology — Rodent Dominant Lethal Test* (Độc tính di truyền - Thử nghiệm chiếm ưu thế của loài gặm nhấm)
- [4] OECD 479, *Genetic Toxicology — In vitro Sister Chromatid Exchange Assay in Mammalian Cells* (Độc tính di truyền - Phép thử trao đổi Chromatid in vitro ở tế bào động vật có vú)
- [5] OECD 480, *Genetic Toxicology — Saccharomyces cerevisiae — Gene Mutation Assay* (Độc tính di truyền học - Saccharomyces cerevisiae - Phép thử đột biến gen)
- [6] OECD 481, *Genetic Toxicology — Saccharomyces cerevisiae — Miotic Recombination Assay* (Độc tính di truyền học - Phép thử tái tổ hợp sacaromyces cerevisiae)
- [7] OECD 482, *Genetic Toxicology — DNA Damage and Repair, Unscheduled DNA Synthesis in Mammalian Cells In vitro* (Độc tính di truyền - Hư hỏng và sửa chữa ADN, Tổng hợp DNA không được quy định trong các tế bào động vật có vú in vitro)
- [8] OECD 483, *Mammalian Spermatogonial Chromosome Aberration Test* (Thử nghiệm nhiễm sắc thể nhiễm sắc thể ở động vật có vú)
- [9] OECD 484, *Genetic Toxicology — Mouse Spot Test* (Độc tính di truyền - Thử nghiệm tại chỗ chuột)
- [10] OECD 485, *Genetic Toxicology — Mouse Heritable Translocation Assay* (Độc tính di truyền - Phép thử dịch mã di truyền chuột)
- [11] OECD 486, *Unscheduled DNA Synthesis (UDS) Test with Mammalian Liver Cells In vivo* (Phép thử tổng hợp DNA không được quy định (UDS) với các tế bào gan động vật có vú in vivo)
- [12] OECD 488, *Transgenic Rodent Somatic and Germ Cell Gene Mutation Assays* (Phép thử đột biến gen của loài gặm nhấm chuyển gen và tế bào mầm)
- [13] *Official Journal of the European Communities*, L 133/73, May 1988, concerning *in vitro* cell transformation tests

Tài liệu tham khảo cho động vật biến đổi gen

- [14] Gorelick N.J. Overview of mutation assays in transgenic mice for routine testing. *Environ. Mol. Mutagen.* 1995, 25 pp. 218–230
- [15] Provost G.S., Rogers B.J., Dyaico M.J., Carr G. Evaluation of the transgenic Lambda/LacI mouse model as a short-term predictor of heritable risk. *Mutat. Res.* 1997, 388 pp. 129–136
- [16] Krishna G., Urda G., Theiss J. Principles and practice of integrating genotoxicity evaluation into routine toxicology studies: a pharmaceutical industry perspective. *Environ. Mol. Mutagen.* 1998, 32 pp. 115–120
- [17] MacGregor J.T. Transgenic animal models for mutagenesis studies: role in mutagenesis research and regulatory testing. *Environ. Mol. Mutagen.* 1998, 32 pp. 106–109
- [18] Kohler S.W., Provost G.S., Kretz P.L., Dyaico M.I., Sorge J.A., Short J.M. Development of a short-term *in vitro* mutagenesis assay: The effect of methylation on the recovery of a lambda phage shuttle vector from transgenic mice. *Nucleic Acids Res.* 1990, 18 pp. 3007–3013
- [19] Short, J.M., Kohler, S.W. and provost, G.S. The use of lambda phage shuttle vectors in transgenic mice for development of a short term mutagenicity assay. In: *Mutation and the environment*. Wiley-Liss, New York, 1990, pp. 355–67. Bibliography for cell transformation assays

Tài liệu tham khảo về phép thử biến đổi tế bào

- [20] Leboeuf R.A., Kerckaert K.A., Aadema M.J., Isfort R.J. Use of the Syrian hamster embryo and BALB/c 3T3 cell transformation for assessing the carcinogenic potential of chemicals. *IARC Sci. Publ.* 1999, 146 pp. 409–425. Available at: <http://apps.who.int/bookorders/anglais/detart1.jsp?sesslan=1&codlan=1&codcol=73&codcch=146>
- [21] Leboeuf R.A., Kerckaert K.A., Aadema M.J., Gibson D.P., Brauning R., Isfort R.J. The pH 6.7 hamster embryo cell transformation assay for assessing the carcinogenic potential of chemicals. *Mutat. Res.* 1996, 356 pp. 65–84
- [22] Aadema M.J., Isfort R.J., Thompson E.D., Leboeuf R.A. The low pH Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation assay: a revitalized role in carcinogenic prediction. *Mutat. Res.* 1996, 356 pp. 5–9
- [23] Isfort R.J., & Leboeuf R.A. The Syrian hamster embryo (SHE) cell transformation system: a biologically relevant *in vitro* model – with carcinogen predicting capabilities – of *in vivo* multistage neoplastic transformation. *Crit. Rev. Oncog.* 1995, 6 pp. 251–260

TCVN 7391-3:2020

- [24] Advances in Modern Environment Toxicology, Vol.1. Mammalian Cell Transformation by Chemical Carcinogens. N. Mishra, V. Dunkel, and M. Mehlman (eds). Senate Press: Princeton Junction (New Jersey, 08550), 1981
- [25] Transformation Assays of Established Cell Lines. Mechanisms and Application. T. Kakunaga and H. Yamasaki (eds). Proceedings of a Workshop Organized by IARC in Collaboration with the US National Cancer Institute and the US Environmental Protection Agency, Lyon 15-17 Feb. 1984. IARC Scientific Publication No. 67
- [26] Barrett J.C., Ohshimura M., Tanaka N., Tsutsui T. Genetic and Epigenetic Mechanisms of Presumed Nongenotoxic Carcinogens. In: Banbury Report 25. Nongenotoxic Mechanisms in Carcinogenesis, 1987, pp. 311–24.
- [27] Oshimura M., Hesterberg T.W., Tsutsui T., Barrett J.C. Correlation of Asbestos-induced Cytogenetic Effects with Cell Transformation of Syrian Hamster Embryo Cells in Culture. *Cancer Res.* 1984 Nov., 44 pp. 5017–5022
- [28] Barrett J.C., Oshimura M., Tanaka N., Tsutsui T. Role of Aneuploidy in Early and Late Stages of Neoplastic Progression of Syrian Hamster Embryo Cells in Culture. In: Aneuploidy, (Dellargo W.L., Voytek P.E., Hollaender A. eds.). Plenum Publishing, 1985
- [29] Fitzgerald D.J., & Yamasaki H. Tumor promotion: Models and assay systems. *Teratogenesis Carcinog. Mutage.* 1990, 10 (2) pp. 89–102
- [30] Kuroki T., & Matsushima T. Performance of short-term tests for detection of human carcinogens. *Mutagenesis.* 1987, 2 (1) pp. 333–337
- [31] Ray V.A. et al. An approach to identifying specialized batteries of bioassays for specific classes of chemicals: Class analysis using mutagenicity and carcinogenicity relationships and phylogenetic concordance and discordance patterns. 1. Composition and analysis of the overall data base. A report of phase II of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutat. Res.* 1987, 3 pp. 197–241
- [32] Dunkel V.D., Schechtman L.M., Tu A.S., Sivak A., Lubet R.A., Cameron T.P. Interlaboratory evaluation of the C3H/10T1/2 cell transformation assay. *Environ. Mol. Mutagen.* 1988, 12 (1), No. 1, pp. 12-31
- [33] Jones C.A., & Huberman E. Callahan, M.F., Tu, A., Halloween, W., Pallota, S., Sivak, A., Lubet, R.A., Avery, M.D., Kouri, R.E., Spalding, J. and Tennant, R.W. An interlaboratory evaluation of the Syrian hamster embryo cell transformation assay using eighteen coded chemicals. *Toxicol. In vitro.* 1988, 2 (2) pp. 103–116
- [34] Schechtman, Rodent cell transformation assays — A brief historical perspective. *Mutat. Res.* 2012, 744 (1) pp. 3–7

Tài liệu tham khảo về phép thử độc tính di truyền và khả năng gây ung thư

- [35] Morita T., Asano N., Awogi T., Sasaki Y.F., Sato S., Shimada H. et al. Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (groups 1, 2A and 2B) the summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS MMS. Collaborative Study of the Micronucleus Group Test. Mammalian Mutagenicity Study Group. *Mutat. Res.* 1997, 389 (1) pp. 3–122
- [36] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Some Monomers, Plastics, and Synthetic Elastomers and Acrolein, Vol. 19, 1979, pp. 41.
- [37] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Surgical Implants and Other Foreign Bodies, Vol. 74, 1999, pp. 225–8.
- [38] IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans. Surgical Implants and Other Foreign Bodies, Vol. 74, 1999, pp. 282–97.
- [39] Nakamura A. et al. Difference in tumor incidence and other tissue responses to polyetherurethanes and polydimethylsiloxane in long-term subcutaneous implantation into rats. *J. Biomed. Mater. Res.* 1992, 1992 pp. 631–650
- [40] Tsuchiya T., & Nakamura A. A new hypothesis of tumorigenesis induced by biomaterials: Inhibitory potentials of intercellular communication play an important role on the tumorpromotion stage. *J. Long Term Eff. Med. Implants.* 1995, 5 pp. 232–242
- [41] Department of Health. Guidelines for the testing of chemicals for mutagenicity. Londong: HMSO, 1989. (Report on Health and Social Security Subjects No. 35)
- [42] Department of Health. Guidelines for the evaluation of chemicals for carcinogenicity. London: HMSO, 1992. (Report on Health and Social Security Subjects No. 42)
- [43] Oppenheimer B.S., Oppenheimer E.T., Stout A.P. Sarcomas induced in rats by implanting cellophane. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1948, 67 (33)
- [44] Brand K.G., Johnson K.H., Buon L.C. Foreign Body, Tumorigenesis *CRC Crit. Rev. Toxicology*, October 1976, pp. 353.
- [45] Brand L., & Brand K.G. Testing of Implant Materials for Foreign Body Carcinogenesis. In *Biomaterials*, 1980, p. 819
- [46] Winter G.D., Gibbons D.F., Plenk H. Jr. eds. *Advances in Biomaterials*, Volume 3, New York, J. Wiley, 1982
- [47] Biological Bases for Interspecies Extrapolation of Carcinogenicity Data. Hill TA., Wands, RC., Leukroth RW. Jr. (eds). (Prepared for the Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services, Washington,

TCVN 7391-3:2020

D.C.) July 1986, Bethesda (MD): Life Science Research Office, Federation of American Societies for Experimental Biology

- [48] National Toxicology Program Report of the BTP Ad Hoc Panel on Chemical Carcinogenesis Testing and Evaluation, August 1984, Board of Scientific Counselors
- [49] ASTM F 1439-39, Standard guide for performance of lifetime bioassay for the tumorigenic potential of implant materials
- [50] Carere A. et al. Methods and testing strategies for evaluating the genotoxic properties of chemicals, European Commission Report EUR 15945 EN, ISSN 1018-5593, Luxemburg (1995)
- [51] Foran J.A. (ED), Principles for the selection of doses in chronic rodent bioassays, ILSI Risk Science Institute, Washington DC, USA, ISBN 0.944398-71-5, 1997

Tài liệu tham khảo phép thử độc tính sinh sản/phát triển

- [52] Guideline for toxicity studies of drugs manual, Chapter 4: Reproductive and developmental toxicity studies. First edition. Editorial Supervision by New Drugs Division, Pharmaceutical Affairs Bureau, Ministry of Health and Welfare, 1990, Yakuji Nippo Ltd
- [53] Gabrielson J.L., & Larsson K.S. Proposal for improving risk assessment in reproductive toxicology. *Pharmacol. Toxicol.* 1990, 66 pp. 10–17
- [54] Neubert D. et al. Results of *in vivo* and *in vitro* Studies for Assessing Prenatal Toxicity. *Environ. Health Perspect.* 1986, 70 pp. 89–103
- [55] Sadler T.W., Horton W.E., Warner C.W. Whole Embryo Culture: A Screening Technique for Teratogens? *Teratog. Carcinog. Mutagen.* 1982, 2 pp. 243–253
- [56] *In vitro* Methods in Developmental Toxicology: Use in Defining Mechanisms and Risk Parameters. GL. Kimmel and DM. Kochhar (eds.). Boca Raton (Florida): CRC Press, 1990
- [57] *In vitro* Embryotoxicity and Teratogenicity Tests. F. Homburger and AH. Goldberg (eds.). Concepts in Toxicology, Vol. 3. Karger, Basel, 1985
- [58] Brent R.L. Predicting Teratogenic and Reproductive Risks in Humans from Exposure to Various Environmental Agents Using *In vitro* Techniques and *In vivo* Animal Studies. *Cong. Anom.* 1988, 28 (Suppl.) pp. 41–55
- [59] Tsuchiya T., Nakamura A., Iio T., Takahasi A. Species Differences between Rats and Mice in the Teratogenic Action of Ethylenethiourea: *In vivo/In vitro* Tests and Teratogenic Activity of Sera Using an Embryonic Cell Differentiation System. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 1991, 109 pp. 1–6
- [60] Tsuchiya T. et al. Embryo lethality of new herbicides is not detected by the micromass teratogen tests. *Arch. Toxicol.* 1991, 65 pp. 145–149

- [61] Kistler A., Tsuchiya T., Tsuchiya M., Klaus M. Teratogenicity of arotinoids (retinoids) *in vivo* and *in vitro*. Arch. Toxicol. 1990, 64 pp. 616–622
- [62] Tsuchiya T. et al. Comparative Studies of Embryotoxic Action of Ethylenethiourea in Rat Whole Embryo and Embryonic Cell Culture. Teratology. 1991, 43 pp. 319–324
- [63] Report of the *in vitro* teratology task force, Organized by the Division of Toxicology, Office of Toxicological Sciences, Center for Food Safety and Applied Nutrition, Food and Drug Administration. Environ. Health Perspect. 1987, 72 pp. 200–235
- [64] Bass R. et al. Draft guideline on detection of toxicity to reproduction for medical products. Adverse Drug React. Toxicol. Rev. 1991, 9 (3) pp. 127–141
- [65] Brown et al. Screening chemicals for reproductive toxicity: the current approaches - the report and recommendations of an ECVAM/EST workshop (ECVAM Workshop 12), ATLA, 1995, 23, pp. 868-882
- [66] Spielmann R. Reproduction and development. Environ. Health Perspect. 1998, 106 (Suppl. 2) pp. 571–576

Tài liệu tham khảo các phép thử động vật chuyển gen như là sự thay thế cho các phép thử khả năng gây ung thư suốt đời

- [68] Storer R.D. Current status and use of short/medium term models for carcinogenicity testing of pharmaceuticals - scientific perspective. Toxicol. Lett. 2000, 112-113 pp. 557–566
- [69] Dass S.B. et al. Evaluation of the transgenic p53± mouse for detecting genotoxic liver carcinogens in a short-term bioassay. Cancer Lett. 1999, 143 pp. 81–85
- [70] Tennant R.W. et al. Genetically altered mouse models for identifying carcinogens. IARC Sci. Publ. 1999, 146 pp. 123–150
- [71] Mahler J.F. et al. Spontaneous and chemically induced proliferative lesions in TG. AC transgenic and p53-heterozygous mice. Toxicol. Pathol. 1998, 26 pp. 501–511
- [72] Tamaoki N. The rasH2 transgenic mouse: Nature of the model and mechanistic studies on tumorigenesis. Toxicol. Pathol. 2001, 29 (Supplement) pp. 81–89
- [73] Usui T., Mutai M., Hisada S., Takaoka M., Soper K.E., McCullough B. et al. CB6F1-rasH2 mouse: Overview of available data. Toxicol. Pathol. 2001, 29 (Supplement) pp. 90–108
- [74] MacDonald J., French J.E., Gerson R.J., Goodman J., Inoue T., Jacobs A. et al. The utility of genetically modified mouse assays for identifying human carcinogens: A basic understanding and path forward. Toxicol. Sci. 2004, 77 pp. 188–194
- [75] Urano K., Suzuki S., Machida K., Sawa N., Eguchi N., Kikuchi K. et al. Use of IC Tags in short-term carcinogenicity study on CB6F1 TGrasH2 mice. J. Toxicol. Sci. 2006, 31 pp. 407–418

TCVN 7391-3:2020

Tài liệu tham khảo cho một quy trình chuẩn bị mẫu thích hợp trong thử nghiệm độc tính di truyền

- [76] Tsuji K, Mizumachi, S., Iida K., Oba T. Kobunshi Ronbunshu. 1977, 34 (4) pp. 287–290
- [77] Oba T., Tsuji K., Nakamura A., Shintani H., Mizumachi S., Kikuchi H. et al. Migration of acetylated hemicellulose from capillary hemodialyzer to blood, causing scleritis and/or iritis. *Artif. Organs*. 1984, 8 (4) pp. 429–435
- [78] OECD Environment Directorate. Chemical group and management committee, Third Meeting of OECD Experts on Polymers (Tokyo, 14-16 April 1993) Chairman's Report
- [79] EPA Proposed Rule 40, CFR Part 723 (58 FR 7679), February 8, 1993
- [80] Nakamura A., Kawasaki Y., Takada K., Aida Y., Kurokawa Y., Kojima S. et al. Difference in tumor incidence and other tissue responses to polyetherurethanes and polydimethylsiloxane in long-term subcutaneous implantation into rats. *J. Biomed. Mater. Res*. 1992, 26 pp. 631–650
- [81] Nakamura A., Kojima S., Isama K., Umemura T., Kawasaki Y., Takada K. et al. The effects of oligomers content and surface morphology on foreign-body tumorigenesis with polyetherurethanes: two years subcutaneous implantation study in rats. *J. Long Term Eff. Med. Implants*. 1995, 5 pp. 263–273
- [82] Reid, RC., Schwoppe, AD., Sidman, KR.: Modeling the migration of additives from polymer films to foods and food simulating liquids, MIT Industrial Liaison Program Report 1-14-84 Directory of Current Research: 3.04.077
- [83] Muller B.P., Ensslen S., Dott W., Hollender J. Improved sample preparation of biomaterials for *in vitro* genotoxicity testing using reference materials. *J. Biomed. Mater. Res*. 2002, 61 pp. 83–90
- [84] Matsuoka A., Isama K., Tsuchiya T. *In vitro* induction of polyploidy and chromatid exchanges by culture medium extracts of natural rubbers compounded with 2-mercaptobenzothiazole as a positive control candidate for genotoxicity tests. *J. Biomed. Mater. Res*. 2005, 75 pp. 439–444
- [85] Matsuoka A., Haishima Y., Hasegawa C., Matsuda Y., Tsuchiya T. Organic-solvent extraction of model biomaterials for use in the *in vitro* chromosome aberration test. *J. Biomed. Mater. Res*. 2008, 86 pp. 13–22
- [86] MHLW Notification by Director. OMDE, Yakushokuki-hatsu 0301 No. 20, March 1, 2012: Basic Principles of Biological Safety Evaluation Required for Application for Approval to Market Medical Devices, Part 3 Genotoxicity Test. YAKUJI NIPPO Ltd, Tokyo, 2012

Tài liệu tham khảo về phép thử *in vitro* cho độc tính phôi

- [87] Brown N.A., Spielmann H., Bechter R., Flint O.P., Freeman S.J., Jelinek R.J. et al. Screening chemicals for reproductive toxicity: the current alternatives. The report and recommendations of an ECVAM/ETS workshop, ECVAM workshop 12. ATLA. 1995, 23 pp. 868–882
- [88] INVITTOX protocol no. 114. (1996). *In vitro* Micromass Teratogen Assay. The ERGATT/FAME Data Bank of *In vitro* Techniques in Toxicology
- [89] Piersma A.H., Attenon P., Bechter R., Govers M.J.A.P., Krafft N., Schmid B.P. et al. Interlaboratory evaluation of embryotoxicity in the postimplantation rat embryo culture. *Reprod. Toxicol.* 1995, 9 pp. 275–280
- [90] Piersma A.H., Bechter R., Krafft N., Schmid B.P., Stadler J., Verhoef A. et al. An interlaboratory evaluation of five pairs of teratogens in postimplantation rat embryo culture. ATLA. 1996, 24 pp. 201–209
- [91] INVITTOX protocol no. 68. (1993). Embryotoxicity testing using a whole embryo culture WEC procedure. The ERGATT/FAME Data Bank of *In vitro* Techniques in Toxicology
- [92] Scholz G., Genschow E., Pohl I., Bremer S., Paparella M., Raabe H. et al. Prevalidation of the Embryonic Stem Cell Test (EST), a new *in vitro* Embryotoxicity Test. *Toxicol. In vitro.* 1999, 13 pp. 675–681
- [93] Spielmann H., Pohl I., Döring B., Liebsch M., Moldenhauer F. The embryonic stem cell test (EST), an *in vitro* embryotoxicity test using two permanent mouse cell lines: 3T3 fibroblasts and embryonic stem cells. *In vitro Toxicol.* 1997, 10 pp. 119–127
- [94] Seiler A., Buesen R., Visan A., Spielmann H. Use of Murine Embryonic Stem Cells in Embryotoxicity Assays: The Embryonic Stem Cell Test. *Methods Mol. Biol.* 2006, *** pp. 371–395
- [95] INVITTOX protocol no. 113. (1996). Embryonic Stem Cell Test (EST). The ERGATT/FAME Data Bank of *In vitro* Techniques in Toxicology
- [96] Genschow E., Spielmann H., Scholz G., Seiler A., Brown N.A., Piersma A. et al. The ECVAM international validation study on *in vitro* embryotoxicity tests. Results of the definitive phase and evaluation of prediction models. ATLA. 2002, 30 pp. 151–176
- [97] Brown N.A. Selection of test chemicals for the ECVAM international validation study on *in vitro* embryotoxicity tests. ATLA. 2002, 30 pp. 177–198
- [98] Genschow E., Spielmann H., Scholz G., Pohl I., Seiler A., Clemann N. et al. Validation of the embryonic stem cell test (EST) in the international ECVAM validation study of three *in vitro* embryotoxicity tests. ATLA. 2004, 32 pp. 209–244

TCVN 7391-3:2020

- [99] Spielmann H., Genschow E., Brown N.A., Piersma A.H., Verhoef A., Spanjersberg M.Q.I. et al. Validation of the postimplantation rat limb bud micromass (MM) test in the international ECVAM validation study of three in vitro embryotoxicity tests. *ATLA*. 2004, 32 pp. 245–274
- [100] Piersma A.H., Genschow E., Verhoef A., Spanjersberg M.Q.I., Brown N.A., Brady M. et al. Validation of the rat postimplantation whole embryo culture test (WEC) in the international ECVAM validation study of three in vitro embryotoxicity tests. *ATLA*. 2004, 32 pp. 275–307
- [101] Balls M., & Hellsten E. Statement of the scientific validity of the embryonic stem cell test (EST) – an in vitro test for embryotoxicity. - Statement of the scientific validity of the micromass test – an in vitro test for embryotoxicity. - Statement of the scientific validity of the postimplantation rat whole embryo culture assay– an in vitro test for embryotoxicity. *ATLA*. 2002, 30 pp. 265–273
- [102] Spielmann H., Seiler A., Bremer S., Hareng L., Hartung T., Ahr H. et al. The practical application of three validated in vitro embryotoxicity tests. The report and recommendations of an ECVAM/ZEBET workshop (ECVAM workshop 57). *Altern. Lab. Anim.* 2006, 5 pp. 527–538

Tài liệu tham khảo cho các phép thử để đánh giá độc tính di truyền

- [103] Ashby J., & Tinwell H. The rodent bone marrow micronucleus assay: contrast between its sensitivity to human carcinogens and its insensitivity to NTP rodent carcinogens –. *Mutat. Res.* 1996, 352 pp. 181–184
- [104] Benigni R. Mouse bone marrow micronucleus assay: relationships with in vitro mutagenicity and rodent carcinogenicity –. *J. Toxicol. Environ. Health.* 1995, 45 pp. 337–347
- [105] Cimino M. Comparative Overview of Current International Strategies and Guidelines for Genetic Toxicology Testing for Regulatory Purposes. *Environ. Mol. Mutagen.* 2006, 47 pp. 362–390
- [106] Committee on Mutagenicity (2000) Guidance on a Strategy for Testing of Chemicals for Mutagenicity, December
- [107] ICH. Guidance on Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use. Step. 2011 November, 4 p. 9
- [108] Draft 2008 S2(R1) Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use
- [109] Elespuru R.K. et al. FORUM: Current and Future Application of Genetic Toxicity Assays: The Role and Value of In vitro Mammalian Assays. *Toxicol. Sci.* 2009, 109 pp. 172–179
- [110] Website F.D.A. Limits of Recognition of ISO 10993-3 available at <http://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfStandards/search.cfm>

- [111] Glatt H., Padykula R., Berchtold G.A., Ludewig G., Platt K.L., Klein J. et al. Multiple Activation Pathways of benzene leading to products with varying genotoxic characteristics. *Environ. Health Perspect.* 1989, 82 pp. 81–89
- [112] Gollapudi B., Schisler M.R., Moore M.M. Evaluation of publicly available mouse lymphoma assay data using currently accepted standards to establish a curated data base. *Toxicologist.* 2010, 114 p. 148
- [113] Kim B.S., & Margolin B.H. Prediction of Rodent Carcinogenicity Utilizing a Battery of *In vitro* and *In vivo* Genotoxicity Tests –. *Environ. Mol. Mutagen.* 1999, 34 pp. 297–304
- [114] Kirkland D., Aardema M., Henderson L., Muller L. Evaluation of the ability of a battery of three *in vitro* genotoxicity tests to discriminate rodent carcinogens and non-carcinogens I. Sensitivity, specificity and relative predictivity –. *Mutat. Res.* 2005, 584 pp. 1–256
- [115] Morita T., Asano N., Awogi T., Sasaki Y.F., Sato S., Shimada H. et al. Evaluation of the rodent micronucleus assay in the screening of IARC carcinogens (groups 1, 2A and 2B) - The summary report of the 6th collaborative study by CSGMT/JEMS • MMS. *Mutat. Res.* 1997, 389 pp. 3–122
- [116] Rosenkranz H., & Cunningham A. The high production volume chemical challenge program: the relevance of the *in vivo* micronucleus assay –. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 2000, 33 pp. 182– 189
- [117] Shelby M.D. Selecting chemicals and assays for assessing mammalian germ cell mutagenicity. *Mutat. Res.* 1996, 352 (3) pp. 159–167
- [118] Shelby M.D., Erexson G.L., Hook G.J., Tice R.R. Evaluation of the three-exposure mouse bone marrow micronucleus protocol, results with 49 chemicals. *Environ. Mol. Mutagen.* 1993, 21 pp. 160–179
- [119] Shelby M.D., & Zeiger E. Activity of human carcinogens in the Salmonella and rodent bone marrow cytogenetics tests. *Mutat. Res.* 1990, 234 (3-4) pp. 257–261
- [120] Snyder R.D. An Update on the Genotoxicity and Carcinogenicity of Marketed Pharmaceuticals with Reference to *In Silico* Predictivity. *Environ. Mol. Mutagen.* 2009, 50 pp. 435–450
- [121] Tweats D.J., Blakey D., Heflich R.H., Jacobs A., Jacobsen S.D., Morita T. et al. Report of the IWGT working group on strategy/interpretation for regulatory *in vivo* tests II. Identification of *in vivo*-only positive compounds in the bone marrow micronucleus test. *Mutat. Res.* 2007, 627 pp. 92–105

TCVN 7391-3:2020

- [122] Tweats D.J., Scott A.D., Westmoreland C., Carmichael P.L. Determination of genetic toxicity and potential carcinogenicity *in vitro* – challenges post the seventh amendment to the European Cosmetics Directive. *Mutagenesis*. 2007, 22 pp. 5–13
- [123] Witt K., Knapton A., Wehr C., Hook G., Mirsalis J., Shelby M. et al. Micronucleated erythrocyte frequency in peripheral blood of B6C3F Mice from short-term, prechronic, and chronic studies of the NTP carcinogenesis bioassay program. *Environ. Mol. Mutagen.* 2000, 36 pp. 163–194
- [124] ISO/TR 10993-33, *Biological evaluation of medical devices — Part 33: Supplement to ISO 10993-3 — Guidance on tests to evaluate genotoxicity (Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế — Phần 33: Bổ sung cho ISO 10993-3 — Hướng dẫn về các thử nghiệm đánh giá độc tính di truyền)*
-