

**TCVN**

**TIÊU CHUẨN QUỐC GIA**

**TCVN 7391-6:2020**

**ISO 10993-6:2016**

Xuất bản lần 2

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

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

HÀ NỘI - 2020

**Mục lục**

	Trang
Lời nói đầu .....	4
1 Phạm vi áp dụng .....	7
2 Tài liệu viện dẫn .....	8
3 Thuật ngữ và định nghĩa .....	8
4 Điều khoản chung cho phương pháp thử cấy ghép .....	9
5 Phương pháp thử, khía cạnh chung .....	11
6 6 Báo cáo thử nghiệm .....	19
Phụ lục A (quy định) Phương pháp thử đối với cấy ghép trong mô dưới da .....	21
Phụ lục B (quy định) Phương pháp thử đối với cấy ghép trong cơ bắp .....	24
Phụ lục C (quy định) Phương pháp thử đối với cấy ghép trong xương .....	26
Phụ lục D (quy định) Phương pháp thử đối với cấy ghép mô não .....	29
Phụ lục E (tham khảo) Ví dụ về đánh giá hiệu quả sinh học tại chỗ sau khi cấy ghép .....	36
Thư mục tài liệu tham khảo .....	40

## TCVN 7391-6:2020

### Lời nói đầu

TCVN 7391-6:2020 thay thế cho TCVN 7391-6:2007.

TCVN 7391-6:2020 hoàn toàn tương đương với ISO 10993-6:2016.

TCVN 7391-6:2020 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 10993-13:2019, *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*

## Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế – Phần 6: Phép thử hiệu ứng tại chỗ sau cấy ghép

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

### 1 Phạm vi áp dụng

Tiêu chuẩn này quy định các phương pháp thử để đánh giá các hiệu ứng tại chỗ sau khi cấy vật liệu sinh học dự định sử dụng trong các thiết bị y tế.

Tiêu chuẩn này áp dụng cho các vật liệu:

- rắn và không hấp thụ,
- không rắn, chẳng hạn như vật liệu xốp, chất lỏng, gel, bột nhào và hạt, và
- có thể phân hủy và/hoặc có thể hấp thụ, có thể là rắn hoặc không rắn.

Mẫu thử được cấy ghép vào một vị trí và các loài động vật thích hợp để đánh giá sự an toàn sinh học của vật liệu. Các thử nghiệm cấy ghép này không nhằm đánh giá hoặc xác định hiệu suất của mẫu thử về mặt tải trọng cơ học hoặc chức năng. Tiêu chuẩn này cũng có thể được áp dụng cho các trang thiết bị y tế dự định sẽ được sử dụng tại chỗ trong chỉ định lâm sàng khi bề mặt hoặc lớp lót có thể bị phá vỡ, để đánh giá phản ứng mô tại chỗ.

Các hiệu ứng tại chỗ được đánh giá bằng cách so sánh phản ứng mô gây ra bởi mẫu thử với nguyên nhân gây ra bởi các vật liệu đối chứng được sử dụng trong các trang thiết bị y tế có đặc tính chấp nhận lâm sàng và tương thích sinh học đã được thiết lập. Mục tiêu của các phương pháp thử là đặc trưng cho lịch sử và sự tiến hóa của phản ứng mô sau khi cấy ghép trang thiết bị y tế/vật liệu sinh học bao gồm tích hợp cuối cùng hoặc hấp thụ/phân hủy vật liệu. Đặc biệt đối với các vật liệu có thể phân hủy/hấp thụ, cần xác định các đặc tính phân hủy của vật liệu và phản ứng mô.

Tiêu chuẩn này không liên quan đến độc tính toàn thân, gây ung thư, gây quái thai hoặc gây đột biến. Tuy nhiên, các nghiên cứu cấy ghép dài hạn nhằm đánh giá các tác động sinh học tại chỗ có thể cung cấp cái nhìn sâu sắc về một số tính chất này. Các nghiên cứu độc tính toàn thân được thực hiện bằng phương pháp cấy ghép có thể đáp ứng các yêu cầu của tiêu chuẩn này. Khi tiến hành các nghiên cứu kết hợp để đánh giá hiệu ứng tại chỗ và hiệu ứng hệ thống, các yêu cầu của cả hai tiêu chuẩn phải được đáp ứng.

## 2 Tài liệu viện dẫn

Các tài liệu viện dẫn sau đây là rất cần thiết khi 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 bản sửa đổi, bổ sung (nếu có).

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

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

TCVN 7391-4 (ISO 10993-4), *Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế – Phần 4: Lựa chọn phép thử tương tác với máu*

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

TCVN 7391-16 (ISO 10993-16), *Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế – Phần 16: Thiết kế nghiên cứu độc tính cho sản phẩm phân hủy và ngâm chiết*

## 3 Thuật ngữ và định nghĩa

Trong tiêu chuẩn này, áp dụng các thuật ngữ và định nghĩa được nêu trong TCVN 7391-1 (ISO 10993-1), TCVN 7391-2 (ISO 10993-2), TCVN 7391-12 (ISO 10993-12), TCVN 7391-16 (ISO 10993-16) và các thuật ngữ, định nghĩa sau:

### 3.1

**hấp thụ/sự hấp thụ** (absorb/absorption)

tác động của vật liệu hoặc chất không nội sinh (ngoại lai) hoặc các sản phẩm phân hủy của nó đi qua hoặc bị đồng hóa bởi các tế bào và/hoặc mô theo thời gian

### 3.2

**sự phân hủy** (degradation)

sự tan rã của vật liệu

[NGUỒN: ISO 10993-9:2009, 3.1]

### 3.3

**sản phẩm phân hủy** (degradation product)

bất kỳ sản phẩm phụ trung gian hoặc cuối cùng nào phát sinh từ sự tan rã vật lý, trao đổi chất và/hoặc hóa học của vật liệu hoặc chất

[NGUỒN: ISO/TR 37137:2014, 2.2, đã sửa đổi]

**3.4****phân hủy (degrade)**

sự tan rã vật lý, trao đổi chất và/hoặc hóa học một vật liệu hoặc chất

[NGUỒN: ISO/TR 37137:2014, 2.3]

**3.5****vật liệu sinh học (biomaterial)**

vật liệu hoặc chất dự định giao tiếp với các hệ thống sinh học để đánh giá, điều trị, tăng cường hoặc thay thế bất kỳ mô, cơ quan hoặc chức năng nào của cơ thể.

[NGUỒN: Hội nghị Vật liệu sinh học của Hiệp hội Châu Âu II]

**4 Điều khoản chung cho phương pháp thử cấy ghép****4.1 Quy định chung**

Điều quan trọng là nghiên cứu phải được lên kế hoạch chi tiết để có thể trích xuất tất cả thông tin liên quan từ việc sử dụng từng động vật và từng nghiên cứu (xem TCVN 7391-2 (ISO 10993-2), TCVN 7391-11 (ISO 10993-11) và TCVN 7391-16 (ISO 10993-16)).

Tất cả các nghiên cứu trên động vật phải được thực hiện trong một cơ sở được phê duyệt bởi một tổ chức được công nhận trên toàn quốc và tuân theo tất cả các quy định phù hợp liên quan đến phúc lợi động vật trong phòng thí nghiệm để phù hợp các yêu cầu của TCVN 7391-2 (ISO 10993-2). Những nghiên cứu này phải được thực hiện theo các thực hành phòng thí nghiệm tốt hoặc các hệ thống đảm bảo chất lượng được công nhận khác.

Các quy định của điều này phải được áp dụng cho các phương pháp thử quy định tại Phụ lục A, Phụ lục B, Phụ lục C và Phụ lục D.

**4.2 Chuẩn bị mẫu để cấy ghép**

**4.2.1** Mẫu thử nghiệm và chuẩn bị vật liệu tham khảo hoặc đối chứng phải theo TCVN 7391-12 (ISO 10993-12). Kích thước và hình dạng cấy ghép phải được ghi lại và chứng minh. Các mẫu thử nghiệm cho các vị trí cấy ghép khác nhau được mô tả trong Phụ lục A, Phụ lục B, Phụ lục C và Phụ lục D. Các đặc tính vật lý (như hình dạng, mật độ, độ cứng, bề mặt) có thể ảnh hưởng đến đặc tính của phản ứng mô với vật liệu thử nghiệm phải được ghi lại và được tính đến khi phản ứng được đặc trưng. Các vật phẩm đối chứng nên được kết hợp càng chặt chẽ càng tốt đối với các đặc trưng vật lý.

**4.2.2** Mỗi vật cấy ghép phải được chế tạo, xử lý, làm sạch các chất nhiễm bẩn và tiệt trùng bằng phương pháp dành cho sản phẩm cuối cùng và điều này phải được xác nhận trong tài liệu nghiên cứu. Sau khi chuẩn bị và khử trùng lần cuối, các mẫu cấy ghép phải được xử lý tiệt trùng và theo cách đảm bảo rằng chúng không bị hư hỏng hoặc nhiễm bẩn theo bất kỳ cách nào trước hoặc trong khi cấy ghép.

4.2.3 Đối với các vật liệu được sử dụng làm giàn cho các sản phẩm y tế chế tạo mô, có thể không nên sử dụng chế phẩm cuối cùng được tạo sẵn với các tế bào và/hoặc protein. Vì phản ứng miễn dịch của động vật với các thành phần tế bào/protein như vậy các sản phẩm và phản ứng của các tế bào với động vật có thể cản trở phản ứng mô tại chỗ, gây khó khăn cho việc diễn giải.

4.2.4 Đối với vật liệu composite (ví dụ: xi măng xương, vật liệu nha khoa), các thành phần có thể được trộn trước khi sử dụng và được phép đặt trước khi cấy ghép. Đối với vật liệu đa thành phần được thiết kế để đóng rắn trước khi đặt, các thành phần có thể được trộn trước khi sử dụng và được phép đặt trước khi cấy ghép. Tuy nhiên, các vật liệu được thiết kế để trùng hợp *in situ* (ví dụ: xi măng xương, nhiều vật liệu nha khoa) phải được giới thiệu theo cách xảy ra trùng hợp *in situ*. Các thủ tục được sử dụng phải được ghi lại và chứng minh.

4.2.5 Các vật liệu không rắn (bao gồm cả bột) có thể được chứa trong các ống hình trụ có đầu mở nhằm mục đích thử nghiệm các hiệu ứng tại chỗ sau khi cấy ghép (xem TCVN 7391-12 (ISO 10993-12) để lựa chọn vật liệu cho ống). Chuẩn bị vật liệu thử theo hướng dẫn của nhà sản xuất và chèn vật liệu vào ống cho đến khi hết mức, chú ý không làm nhiễm bẩn bề mặt ngoài của ống với vật liệu thử. Nếu nhiễm bẩn xảy ra, mẫu không được cấy ghép. Tránh kẹt không khí trong ống và đảm bảo rằng các bề mặt cuối của vật liệu được chèn vào ống và đầu ống trơn tru.

Các ống polyetylen (PE), polypropylen (PP) hoặc polytetrafluoroetylen (PTFE) thường được sử dụng cho mục đích này. Ống PE có thể bị biến dạng bởi nồi hấp.

4.2.6 Đánh giá phải được thực hiện bằng cách so sánh phản ứng mô với mẫu/vật liệu tương tự có các đặc tính chấp nhận lâm sàng và tương thích sinh học đã được thiết lập.

CHÚ THÍCH: Để được hướng dẫn thêm, xem TCVN 7391-12 (ISO 10993-12).

4.2.7 Các đặc tính vật lý như hình dạng và đặc biệt là điều kiện bề mặt của các đối chứng, phải tương tự như các mẫu thử nghiệm cấy ghép là thực tế, với bất kỳ sai lệch nào được giải thích và chứng minh. Khi vật liệu thử được chứa trong ống, đối chứng phải cùng vật liệu với ống và có cùng đường kính với đường kính ngoài của ống. Sự lựa chọn thanh hoặc ống đối chứng phải được ghi lại và chứng minh.

4.2.8 Đối với các nghiên cứu cấy ghép, số lượng hoặc kích thước của vật phẩm thử nghiệm và đối chứng phải được ghi lại.

### 4.3 Thiết kế nghiên cứu

Đối với các trang thiết bị đang bao gồm/đã bao gồm hai hoặc nhiều vật liệu khác nhau, các vật phẩm thử nghiệm nên có thành phần tương tự hoặc có thể cần nhiều vật cấy ghép, ví dụ: Nếu một trang thiết bị được làm bằng nhựa HDPE và titan thì vật phẩm thử nghiệm phải được làm bằng nhựa HDPE và titan.



## 5 Phương pháp thử, khía cạnh chung

### 5.1 Mô và vị trí cấy ghép

5.1.1 Mẫu thử phải được cấy ghép vào các mô phù hợp nhất với mục đích sử dụng lâm sàng của vật liệu. Sự chứng minh cho việc lựa chọn số lượng mẫu, vị trí mô và cấy ghép phải được ghi lại. Các phương pháp thử cho các vị trí cấy ghép khác nhau được nêu trong Phụ lục A, Phụ lục B, Phụ lục C và Phụ lục D. Nếu các vị trí cấy ghép khác được chọn, các nguyên tắc khoa học chung phía sau các phương pháp thử được mô tả trong Phụ lục A, Phụ lục B, Phụ lục C và Phụ lục D vẫn sẽ được tôn trọng và chứng minh được cung cấp.

CHÚ THÍCH: Đối với một số trang thiết bị, có các tiêu chuẩn riêng quy định các nghiên cứu cấy ghép cụ thể để đánh giá phản ứng mô tại chỗ, ví dụ: cấy ghép thủy tinh thể nhân tạo<sup>[47]</sup> và phép thử sử dụng nha khoa<sup>[12]</sup>. Những nghiên cứu này có thể được sử dụng để đáp ứng các yêu cầu trong TCVN 7391-6 (ISO 10993-6).

5.1.2 Đối với các vật liệu có thể hấp thụ, vị trí cấy ghép phải được đánh dấu theo cách phù hợp để nhận dạng vị trí vào cuối khoảng thời gian được chỉ định. Việc sử dụng điểm đánh dấu da vĩnh viễn không xâm nhập và/hoặc mẫu đánh dấu vị trí của mẫu thử được khuyến nghị chỉ trong khoảng thời gian nghiên cứu ngắn hạn. Trong hầu hết các trường hợp, có thể sử dụng một điểm đánh dấu vị trí bao gồm một đối chứng âm tính không thể hấp thụ thích hợp (ví dụ: HDPE 1 mm × 2 mm × 5 mm, chỉ khâu PP, dải vàng, kẹp) để nhận biết vị trí của vị trí cấy ghép. Những điểm đánh dấu vị trí này có thể được loại bỏ mà không tạo ra các hình ảnh giả cho giao diện mô-vật phẩm thử nghiệm trước khi xử lý mô học.

Ngoại lệ, một quy trình phẫu thuật giả có thể được sử dụng để đánh giá tác động của quy trình lên mô liên quan; trong những trường hợp này, phải cung cấp sự chứng minh cụ thể.

### 5.2 Động vật

5.2.1 Tất cả các khía cạnh của chăm sóc và chỗ nuôi động vật phải theo TCVN 7391-2 (ISO 10993-2). Nói chung, thường dùng các động vật thí nghiệm nhỏ như chuột nhắt, chuột cống, chuột lang hoặc thỏ.

5.2.2 Việc sử dụng động vật lớn hơn có thể được chứng minh dựa trên những xem xét khoa học đặc biệt của vật liệu sinh học cụ thể đang được nghiên cứu, hoặc nếu cần để phù hợp với kích thước cấy ghép, với thử nghiệm toàn bộ trang thiết bị.

5.2.3 Chọn một loài động vật phù hợp với các nguyên tắc được nêu trong TCVN 7391-2 (ISO 10993-2), xem xét đúng kích thước của các mẫu thử nghiệm cấy ghép, số lượng cấy ghép trên mỗi động vật, thời gian thử nghiệm dự kiến liên quan đến tuổi thọ được kỳ vọng của động vật, cũng như sự khác biệt loài tiềm năng liên quan đến phản ứng sinh học.

## TCVN 7391-6:2020

5.2.4 Đối với thử nghiệm ngắn hạn, động vật như động vật gặm nhấm hoặc thỏ thường được sử dụng. Đối với thử nghiệm lâu dài, các động vật như động vật gặm nhấm, thỏ, chó, cừu, dê, lợn và các động vật khác có tuổi thọ tương đối dài là phù hợp.

5.2.5 Trước khi bắt đầu một nghiên cứu trên động vật với các vật liệu có thể phân hủy, cần xem xét thông tin liên quan từ các nghiên cứu phân hủy *in vitro*. Đối với các vật liệu có thể hấp thụ, một nghiên cứu thí điểm trên động vật gặm nhấm có thể được xem xét để xác định tốc độ phân hủy dự kiến trước khi bắt tay vào nghiên cứu trên động vật lớn hơn.

5.2.6 Các mẫu vật liệu thử nghiệm và đối chứng phải được cấy ghép trong cùng điều kiện ở động vật cùng loài và cùng độ tuổi, giới tính và chủng ở các vị trí giải phẫu tương ứng. Số lượng và kích thước của cấy ghép được đưa vào động vật phụ thuộc vào kích thước của loài và vị trí giải phẫu. Bất cứ khi nào có thể, đối chứng tham chiếu và các mẫu thử nên được cấy ghép vào cùng một con vật.

5.2.7 Tuy nhiên, khi nghiên cứu cấy ghép thần kinh (xem Phụ lục D) được thực hiện hoặc khi các hiệu ứng tại chỗ sau khi cấy ghép được nghiên cứu như là một phần của nghiên cứu độc tính toàn thân bằng cách cấy ghép, các mẫu đối chứng và thử nghiệm phải không được đặt vào cùng một động vật.

### 5.3 Thời gian thử nghiệm

5.3.1 Thời gian thử nghiệm phải được xác định theo thời gian phơi nhiễm lâm sàng có khả năng hoặc được tiếp tục cho đến khi hoặc vượt quá khi đạt đến trạng thái ổn định liên quan đến đáp ứng sinh học. Các thời điểm được chọn phải được giải thích và chứng minh.

5.3.2 Đối với các vật liệu không hấp thụ, các phản ứng ngắn hạn thường được đánh giá từ 1 tuần đến 4 tuần và các phản ứng dài hạn trong các phép thử vượt quá 12 tuần. Phản ứng sinh học tại chỗ đối với vật liệu cấy ghép phụ thuộc cả vào tính chất của vật liệu và phản ứng với chấn thương liên quan đến phẫu thuật. Cấu hình mô trong vùng lân cận của mô cấy ghép thay đổi theo thời gian trôi qua sau phẫu thuật. Trong hai tuần đầu sau khi cấy ghép, phản ứng do quy trình phẫu thuật tự nó có thể khó phân biệt với phản ứng mô được gọi lên bởi cấy ghép. Trong cơ và mô liên kết, tùy thuộc vào loài và mức độ nghiêm trọng của chấn thương phẫu thuật, trạng thái ổn định được nhìn thấy trong quần thể tế bào sau 9 tuần đến 12 tuần. Cấy ghép trong mô xương có thể cần thời gian quan sát lâu hơn trước khi đạt được trạng thái ổn định.

5.3.3 Đối với các vật liệu có thể hấp thụ, thời gian thử nghiệm phải liên quan đến thời gian phân hủy ước tính của sản phẩm thử nghiệm tại nơi cấy ghép có liên quan về mặt lâm sàng. Khi xác định các thời điểm để đánh giá mẫu, phải ước tính thời gian phân hủy. Điều này có thể được thực hiện *in vitro* bằng các nghiên cứu phân hủy thời gian thực hoặc lắng tốc hoặc trong một số trường

hợp nhất định bằng mô hình toán học. Nói chung, thời gian nghiên cứu nên kéo dài đến hoặc vượt quá điểm hấp thụ hoàn toàn. Thời gian đánh giá vật liệu hấp thụ sẽ phụ thuộc một phần vào tốc độ phân hủy của vật liệu. Khoảng thời gian nghiên cứu nên kéo dài một phần đáng kể của khung thời gian phân hủy cho vật cấy ghép, và sẽ bao gồm, tối thiểu, các thời điểm sau:

- a) khung thời gian sớm (khi không có hoặc phân hủy tối thiểu) - Đối với các vật liệu có thể hấp thụ, thường nên sử dụng khoảng thời gian nghiên cứu trong khoảng từ 1 tuần đến 2 tuần sau khi cấy ghép để đánh giá đáp ứng mô sớm.
- b) khung thời gian giữa (khi đang phân hủy) - Khoảng thời gian nghiên cứu tiếp theo cho các trang thiết bị có thể hấp thụ phải được hướng dẫn bởi hồ sơ phân hủy của vật liệu hấp thụ cụ thể. Khoảng thời gian mục tiêu phải cho phép đánh giá đáp ứng mô học khi phản ứng mô được dự kiến sẽ rõ rệt nhất (ví dụ: sự gián đoạn cấu trúc đáng kể và/hoặc sự phân mảnh của trang thiết bị có khả năng xảy ra nhiều nhất). Cấy ghép với hồ sơ phân hủy dài hạn có thể yêu cầu nhiều thời điểm đánh giá, với các khoảng thời gian được nhắm mục tiêu theo mô hình phân hủy dự kiến.

Khi một trang thiết bị có nhiều vật liệu có tốc độ hấp thụ khác nhau được cấy ghép, các khoảng thời gian cấy ghép phản ánh cấu hình phân hủy của các thành phần đó nên được đưa vào.

- c) khung thời gian trễ (khi cấy ghép cơ bản được hấp thụ) - Khoảng thời gian này được nhắm mục tiêu để quan sát khi lượng tối thiểu của thành phần có thể hấp thụ vẫn còn ở vị trí cấy ghép.

Đánh giá gộp và kính hiển vi sau khi hấp thụ hoàn toàn cấy ghép là rất mong muốn. Tuy nhiên, trong trường hợp không hấp thụ hoàn toàn, dữ liệu tổng thể được thu thập phải đủ để cho phép mô tả đặc điểm của các hiệu ứng tại chỗ sau khi cấy ghép nếu:

- phản ứng, cấu trúc và chức năng của mô bị ảnh hưởng đã đạt được trạng thái ổn định ở mức chấp nhận được, và
- vật liệu có thể hấp thụ và/hoặc các sản phẩm phân hủy của nó ở trạng thái giới hạn trực quan rõ ràng.

**CHÚ THÍCH:** Phân hủy *in vivo* có thể xảy ra trong một khoảng thời gian dài, đôi khi hơn một năm. Các động vật bổ sung để kéo dài thời gian quan sát (khoảng thời gian nhóm được xác định) có thể có lợi nếu vật cấy ghép không được hấp thụ hoàn toàn trong khoảng thời gian điều tra dự kiến và không thể quan sát bằng kính hiển vi.

Trong những tình huống khi vật liệu không được hấp thụ hoàn toàn trong khung thời gian trễ, có thể đưa ra chứng minh khoa học thích hợp để kết thúc nghiên cứu và tỷ lệ phần trăm ước tính (%) của vật liệu hấp thụ còn lại phải được báo cáo.

Các nghiên cứu dài hạn kéo dài một phần đáng kể khung thời gian phân hủy cho cấy ghép được khuyến nghị. Cấy ghép vật liệu đã bị phân hủy *in vitro* (ví dụ, giảm tới 50 % trọng lượng

## TCVN 7391-6:2020

hoặc giảm 50 % độ bền cơ học) có thể được xem xét trên cơ sở từng trường hợp để quan sát nhanh hơn các sự kiện ở giai đoạn muộn sau khi cấy ghép. Tuy nhiên, những nghiên cứu này không thay thế các nghiên cứu mô tả cấu hình phân hủy *in vivo* thời gian thực của trang thiết bị có thể hấp thụ.

5.3.4 Đặc tính của quá trình phân hủy của trang thiết bị có thể hấp thụ có thể không áp dụng được cho việc đánh giá hiệu ứng tại chỗ của cùng một vật liệu có thể hấp thụ khi được sử dụng kết hợp: với một loại thuốc làm chất mang đối với giải phóng thuốc, một giàn đỡ các sản phẩm mô công nghệ y tế hoặc một lớp phủ bề mặt cho cấy ghép không thể hấp thụ. Vì sự kết hợp của các trang thiết bị với thuốc và/hoặc tế bào có thể đưa ra các vấn đề mới, nên các cơ quan quản lý thích hợp nên được tư vấn về thiết kế nghiên cứu cho các sản phẩm kết hợp hấp thụ.

5.3.5 Mặc dù tiêu chuẩn này không đề cập đến các vấn đề về độc tính hệ thống được nêu trong TCVN 7391-11 (ISO 10993-11), nhưng thông tin cần có để đáp ứng tiêu chuẩn này được lấy từ bất kỳ nghiên cứu độc tính hệ thống nào khi sử dụng phương pháp cấy ghép.

5.3.6 Đối với các nghiên cứu dài hạn, các giai đoạn quan sát được chấp nhận chung đối với các vật liệu sinh học không hấp thụ được nêu trong Bảng 1. Động vật nên được hiến tế nhân tạo tại mỗi thời điểm, phù hợp với TCVN 7391-2 (ISO 10993-2). Kết quả theo thứ tự dưới điều kiện gây mê toàn thân với phục hồi có thể được chấp nhận trong những trường hợp đặc biệt, phải được ghi lại và chứng minh.

**Bảng 1 - Thời gian thử nghiệm có thể để cấy ghép dài hạn các vật liệu sinh học**

Loài	Thời gian cấy ghép trong tuần <sup>a</sup>				
	13	26	52	78	104
Chuột nhắt	X	X	X	-	-
Chuột cống trắng	X	X	X	-	-
Chuột lang	X	X	X	-	-
Thỏ	X	X	X	X	X
Chó	X	X	X	X	X
Cừu	X	X	X	X	X
Dê	X	X	X	X	X
Lợn	X	X	X	X	X

<sup>a</sup> Những giai đoạn cấy ghép này thường được sử dụng; tuy nhiên, các giai đoạn khác có thể được áp dụng dựa trên các đặc tính cụ thể của vật liệu thử nghiệm. Tùy thuộc vào mục đích sử dụng của vật liệu thử nghiệm, không phải tất cả các giai đoạn cấy ghép đều có thể cần thiết.

#### 5.4 Điều kiện phẫu thuật và thử nghiệm

**5.4.1** Phẫu thuật phải được thực hiện dưới điều kiện gây mê toàn thân. Nếu một loại gây mê khác được sử dụng, điều này phải được chứng minh và phải phù hợp với TCVN 7391-2 (ISO 10993-2). Các quy trình chèn hoặc cấy ghép cụ thể cho cấy ghép dưới da, cơ, xương hoặc thần kinh được mô tả tương ứng trong Phụ lục A, Phụ lục B, Phụ lục C và Phụ lục D.

**5.4.2** Số lượng cấy ghép trên mỗi động vật và số lượng động vật trong mỗi giai đoạn quan sát được mô tả trong Phụ lục A, Phụ lục B, Phụ lục C và Phụ lục D. Một số mẫu thử nghiệm và đối chứng đủ phải được cấy ghép để đảm bảo rằng số cuối cùng các mẫu được đánh giá sẽ cho kết quả hợp lệ.

**5.4.3** Kỹ thuật phẫu thuật có thể ảnh hưởng sâu sắc đến kết quả của bất kỳ quy trình cấy ghép nào. Phẫu thuật phải được thực hiện trong điều kiện vô trùng và theo cách giảm thiểu chấn thương tại vị trí cấy ghép. Loại bỏ lông khỏi vùng phẫu thuật bằng cách cắt, cạo hoặc các phương tiện cơ học khác. Khử trùng vùng tiếp xúc của da bằng chất khử trùng thích hợp. Đảm bảo rằng cấy ghép hoặc bề mặt vết thương không tiếp xúc với lông. Sau phẫu thuật đóng vết thương bằng

## TCVN 7391-6:2020

chỉ khâu hoặc kẹp vết thương, thực hiện các biện pháp phòng ngừa để duy trì tình trạng vô trùng. Sử dụng kháng sinh nên được chứng minh.

**5.4.4** Sức khỏe của động vật phải được theo dõi và ghi lại đều đặn trong suốt quá trình nghiên cứu. Sau phẫu thuật, mỗi động vật phải được quan sát tại các khoảng thời gian thích hợp trong giai đoạn thử nghiệm, và bất kỳ phát hiện bất thường nào sẽ được ghi lại, bao gồm các bất thường tại chỗ, toàn thân và hành vi, và ảnh hưởng tiềm năng của chúng đến kết quả thu được mô tả trong báo cáo thử nghiệm.

**5.4.5** Các phép đo khối lượng cơ thể nên được thực hiện trong khoảng thời gian thích hợp. Việc sử dụng thuốc giảm đau sau phẫu thuật phải phù hợp với các yêu cầu của TCVN 7391-2 (ISO 10993-2).

**5.4.6** Vào cuối giai đoạn thử nghiệm, tiêu diệt động vật bằng cách sử dụng thuốc gây mê quá liều hoặc bằng một số phương pháp nhân đạo khác theo các nguyên tắc được nêu trong TCVN 7391-2 (ISO 10993-2).

## 5.5 Đánh giá

### 5.5.1 Quy định chung

Đánh giá phản ứng sinh học bằng cách ghi nhận các phản ứng bằng mắt thường và mô bệnh học như là một hàm số của thời gian. So sánh các phản ứng với mẫu thử so với các phản ứng nhận được tại mẫu đối chứng hoặc vị trí vận hành giả.

CHÚ THÍCH: Ví dụ về các hệ thống phân cấp được nêu trong Phụ lục E và trong Thư mục tài liệu tham khảo.

Tiến hành so sánh các cây ghép đối chứng và thử nghiệm tại các vị trí tương đương so với từng vật cấy ghép, sao cho hiệu quả của chuyển động tương đối giữa mô và cây ghép là tối thiểu.

Đối với một mẫu hình trụ, vùng này nằm giữa các đầu của mẫu. Với cây ghép hình trụ có rãnh, các phần trung tâm giữa các rãnh, cũng như các bề mặt đầu trên phẳng của cây ghép phù hợp để đánh giá.

Đối với mỗi khoảng thời gian cấy ghép, một số lượng mẫu đủ phải được đánh giá theo quy định tại Phụ lục A, Phụ lục B, Phụ lục C và Phụ lục D. Các mẫu này phải được lấy từ ít nhất ba động vật khác nhau.

Trong trường hợp đặc biệt, khi có ít hơn số lượng vị trí cấy ghép ban đầu để đánh giá hoặc trong trường hợp mất động vật, nhà nghiên cứu bệnh học đánh giá có thể xác định xem số lượng vị trí có đồng nhất trong phản ứng của họ hay không, để có thể đánh giá tổng thể chính xác.

### 5.5.2 Đánh giá bằng mắt thường

Mỗi vị trí cây ghép phải được kiểm tra sự thay đổi của cấu trúc bình thường. Điều này nên bao gồm đánh giá vùng dẫn lưu các hạch bạch huyết<sup>[32]</sup>. Nên sử dụng ống kính có độ phóng đại thấp. Ghi lại bản chất và mức độ của bất kỳ phản ứng mô nào được quan sát, chẳng hạn như khối máu tụ, phù, đóng nang và/hoặc phát hiện tổng thể bổ sung. Ghi lại sự hiện diện, hình thức và vị trí của cây ghép, bao gồm cả dư lượng có thể của vật liệu có thể phân hủy. Việc sử dụng chụp ảnh macro màu có thể hữu ích cho tài liệu.

Ngoài việc kiểm tra vị trí cây ghép, bất cứ khi nào một con vật có dấu hiệu bị bệnh hoặc phản ứng với cây ghép, phải tiến hành mổ khám.

### 5.5.3 Lấy mẫu cây ghép và lấy mẫu mô

Sau khi động vật đã được chết nhẹ nhàng một cách nhân tạo, cắt bỏ vị trí cây ghép cùng với mô xung quanh không bị ảnh hưởng (2 mm đến 5 mm) để cho phép đánh giá đáp ứng mô bệnh học tại chỗ. Nếu vật liệu ứng dự kiến không rõ ràng tại vị trí được kiểm tra (vật liệu có thể hấp thụ), tiến hành mở rộng vị trí giải thích để bao gồm vài milimet mô bình thường ở tất cả các mặt của vị trí cây ghép dự kiến. Cố định hóa học vị trí cây ghép có chứa vật liệu thử nghiệm và/hoặc đối chứng có thể được thực hiện ở giai đoạn này. Cố định hóa học trong dung dịch chính thức 10 % phù hợp với hầu hết các vật liệu và vết bản. Việc cố định trong 24 h đến 72 h là hợp lý tùy thuộc vào kích thước mẫu mô. Sau khi cố định về mặt hóa học, các vật liệu cứng, như kim loại hoặc nhựa dày đặc có thể được loại bỏ cẩn thận khỏi vỏ cây ghép. Các nang đánh dấu khoang cây ghép. Một số vật liệu mềm có thể được cắt tỉa và để lại tại chỗ để xử lý và phân chia theo phương pháp vi ống parafin. Điều này có thể được ưa thích hơn nếu các vật liệu xốp và có sự xâm nhập mô theo thời gian.

Đối với cây ghép không phân hủy, dẫn lưu các hạch bạch huyết nên được thu thập theo chỉ định của bệnh lý thô. Đối với cây ghép có thể phân hủy, cần thu thập các hạch bạch huyết, khi có thể thực hiện được, vì việc đánh giá dẫn lưu các hạch bạch huyết là rất quan trọng để chứng minh sự di chuyển của các vật liệu phân hủy.

**CHÚ THÍCH 1:** Đã công nhận rằng không phải lúc nào cũng có thể xác định vị trí dẫn lưu các hạch bạch huyết của tất cả các mẫu.

Nếu được chỉ định bởi sức khỏe kém, và bệnh lý thô, hoặc bằng thiết kế thực nghiệm để đánh giá độc tính toàn thân, các cơ quan khác sẽ được thu thập khi thích hợp.

Xử lý các mẫu mô bị cắt theo các quy trình thích hợp cần thiết để đánh giá mô học, bao gồm cố định, cắt bỏ, nhúng, cắt và nhuộm màu. Ghi lại hướng của vật cây ghép, số phần, độ dày của phần và hình dạng cắt, khi thích hợp.

## TCVN 7391-6:2020

Khi sử dụng các kỹ thuật thông thường (nhúng parafin), có thể mở lớp vỏ bọc mô trước hoặc sau khi tiếp xúc với chất cố định và tình trạng của bề mặt cấy ghép và lớp mô phải được báo cáo. Cần thận trọng không phá hủy giao diện cấy ghép/mô nếu vỏ bọc được mở trên các mô tươi không trộn. Khi giao diện cấy ghép/mô được nghiên cứu trong các vật liệu cứng như kim loại hoặc nhựa dày đặc, việc nhúng vỏ bọc mô còn nguyên vẹn với vật cấy ghép *in situ* bằng cách sử dụng nhựa cứng thay vì parafin được ưu tiên; kỹ thuật cắt hoặc mài thích hợp được sử dụng để chuẩn bị các phần mô học.

Khi các mô hoặc cấy ghép không thể được cắt trong parafin, các kỹ thuật nhúng/cắt khác (ví dụ như nhúng nhựa) có thể cần thiết để đánh giá giao diện mô/cấy ghép. Nếu kỹ thuật nhúng làm thay đổi giao diện mô/cấy ghép, mọi quan sát tại giao diện phải được ghi lại.

CHÚ THÍCH 2: Đối với cấy ghép mềm, có thể được thực hiện mà không cần tháo mô cấy ghép.

### 5.5.4 Đánh giá bằng kính hiển vi

Hệ thống tính điểm được sử dụng để đánh giá mô học sẽ tính đến phạm vi khu vực bị ảnh hưởng, theo định lượng (ví dụ: tính bằng micromet) hoặc bán định lượng (xem Phụ lục E). Định hướng cấy ghép, số phần và hình học cắt nên được ghi lại.

Các thông số đáp ứng sinh học, phải được đánh giá và ghi lại, bao gồm:

- a) mức độ xơ hóa/nang xơ; lớp trong micromet hoặc bán định lượng (xem Phụ lục E) và viêm;
- b) sự phân hủy được xác định bởi những thay đổi về hình thái mô;
- c) số lượng và sự phân bố như là một hàm số của khoảng cách từ giao diện vật chất/mô của các loại tế bào viêm, cụ thể là tế bào đa hình, tế bào lympho, tế bào plasma, bạch cầu ái toan, đại thực bào và tế bào đa nhân;
- d) sự có mặt và mức độ hoại tử;
- e) các thay đổi mô khác, chẳng hạn như mạch máu, thâm nhiễm mỡ, hình thành u hạt, khoáng hóa và hình thành xương;
- f) các thông số vật liệu, chẳng hạn như sự phân mảnh và/hoặc sự hiện diện của mảnh vỡ, hình thức và vị trí của dư lượng vật liệu phân hủy;
- g) chất lượng và số lượng của mô ăn sâu vào, đối với vật liệu cấy ghép xốp và có thể hấp thụ.

Các phản ứng mô học, bao gồm mọi phát hiện bất lợi, phải được ghi lại. Máy quang ảnh có thể hữu ích cho tài liệu.

Đối với các vật liệu có thể phân hủy/hấp thụ, ở mức độ phân hủy trung gian hoặc gần như hoàn toàn, một số vật liệu còn lại của mô cấy ghép phân hủy phải có mặt trong các mẫu mô được kiểm tra. Ngoài ra, để đánh giá sự phục hồi cấu trúc bình thường, các khu vực đại diện của vị trí cấy ghép phải được đánh giá, theo chỉ định bởi điểm đánh dấu hoặc mẫu.



Đối với cấy ghép trong xương, giao diện giữa mô và vật liệu được đặc biệt quan tâm. Đánh giá diện tích tiếp xúc với xương và lượng xương trong vùng lân cận của mô cấy ghép, cũng như sự có mặt của các mô không can thiệp. Sự có mặt của sự tái hấp thu xương hoặc sự hình thành xương mới phải được ghi lại.

Ngoài việc đánh giá mô bệnh học Hematoxylin và Eosin tiêu chuẩn, phân tích bổ sung được khuyến nghị trong trường hợp phát hiện mô bệnh học bất lợi (ví dụ như thâm nhiễm tế bào miễn dịch).

### 5.5.5 Đánh giá các phản ứng

Ví dụ về các hệ thống tính điểm định lượng được nêu trong Tài liệu tham khảo<sup>[25]</sup> và<sup>[26]</sup>.

Ví dụ về các hệ thống tính điểm bán định lượng được nêu trong Phụ lục E và trong Tài liệu tham khảo<sup>[17]</sup>,<sup>[18]</sup> và<sup>[20]</sup>.

Ngoài ra, các ví dụ về các hệ thống tính điểm khác được bao gồm trong Thư mục tài liệu tham khảo.

## 6 Báo cáo thử nghiệm

### 6.1 Quy định chung

Báo cáo thử nghiệm phải có đủ chi tiết để cho phép đánh giá độc lập kết quả. Khi có nhiều hơn một vật liệu trang thiết bị, nhà nghiên cứu bệnh học nên đánh giá và báo cáo về từng vật liệu riêng lẻ. Báo cáo phải bao gồm các mục được liệt kê trong 5.1 đến 5.5. Ngoài ra, các mục sau đây phải được báo cáo.

### 6.2 Phòng thử nghiệm

- a) Tên của phòng thử nghiệm và các chứng nhận của phòng thử nghiệm.
- b) Ngày, tên và chữ ký của người chịu trách nhiệm báo cáo.

### 6.3 Mẫu cấy ghép

- a) Mô tả các vật liệu thử nghiệm và đối chứng, chẳng hạn như nhận dạng, tình trạng bề mặt và hình dạng, kích thước, trọng lượng và hình thức của cấy ghép.
- b) Lý do lựa chọn mẫu đối chứng và dạng vật lý của vật liệu cấy ghép phải được nêu.

### 6.4 Động vật và cấy ghép

- a) Loài, chủng, giới tính, tuổi, và/hoặc trọng lượng và nguồn gốc phải được báo cáo và chứng minh.
- b) Các điều kiện thử nghiệm, bao gồm cả chỗ nuôi nhốt và chế độ ăn uống phải được báo cáo.
- c) Tất cả các quan sát phúc lợi động vật trong quá trình nghiên cứu phải được ghi lại và lập thành văn bản

## **TCVN 7391-6:2020**

- d) Các kỹ thuật chèn, bao gồm quy trình phẫu thuật, gây mê và giảm đau sau phẫu thuật, vị trí và số lượng cấy ghép trên mỗi động vật phải được ghi lại và báo cáo.
- e) Các vấn đề liên quan đến cấy ghép hoặc giải thích và tất cả các quan sát được thực hiện trong quá trình nghiên cứu phải được ghi lại.

### **6.5 Quy trình thu hồi và mô học**

- a) Báo cáo phải bao gồm mô tả về kỹ thuật thu hồi. Số lượng cấy ghép được lấy trên mỗi động vật và mỗi giai đoạn quan sát phải được ghi lại.
- b) Đánh giá cấy ghép, bao gồm cả quan sát tổng thể của cấy ghép, mô và cơ quan, phải được ghi lại. Kỹ thuật sử dụng cho việc cố định và chuẩn bị các phần mô học phải được mô tả.
- c) Phương pháp và kết quả đánh giá mô học của vị trí cấy ghép và bất kỳ cơ quan nào cho thấy sự thay đổi khi hoại tử, khi được chỉ định.
- d) Đối với các vật liệu có thể hấp thụ, báo cáo phải bao gồm, nhưng không giới hạn ở phần mô tả mức độ phân hủy, bao gồm các đặc tính vật liệu ở dạng hạt (hạt tự do, sự hình thành sợi, gel vô định hình, độ kết tinh). Các quan sát bổ sung có liên quan tiềm năng, chẳng hạn như thay đổi trọng lượng phân tử và giảm khối lượng, nên được xem xét nếu cấy ghép có thể được loại bỏ mà không làm hỏng giao diện cấy ghép/mô.
- e) Khi mục tiêu cuối cùng của cấy ghép là dẫn đến việc tái tạo mô, đánh giá sự hình thành của mô bình thường dự kiến tại vị trí thay vì phân hủy hoàn toàn có thể được xem xét.

### **6.6 Đánh giá bằng mắt thường và bằng kính hiển vi**

- a) Các quan sát bằng mắt thường phải bao gồm các quan sát được thực hiện trên mỗi mô cấy ghép cũng như quan sát bằng mắt thường mô xung quanh mô cấy ghép. Khi áp dụng, điều này phải bao gồm quan sát dẫn lưu các hạch bạch huyết, đặc biệt là đối với các vật liệu có thể hấp thụ.
- b) Báo cáo phải bao gồm các kết quả thu được từ mỗi lần thử nghiệm mô học và phân tích (thống kê) khi áp dụng. Khi áp dụng, điều này phải bao gồm quan sát dẫn lưu các hạch bạch huyết, đặc biệt là đối với các vật liệu có thể hấp thụ.

### **6.7 Đánh giá cuối cùng**

Báo cáo phải bao gồm một đánh giá so sánh về các hiệu ứng tại chỗ sau khi cấy ghép theo các phản ứng sinh học đối với các vật liệu thử nghiệm và đối chứng.

## Phụ lục A (quy định)

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

#### A.1 Lĩnh vực ứng dụng

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

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

#### A.2 Nguyên tắc

Phản ứng sinh học đối với cấy ghép mẫu thử được so sánh với phản ứng sinh học đối với cấy ghép mẫu đối chứng. Các vật liệu đối chứng là những vật liệu được sử dụng trong các trang thiết bị y tế có đặc điểm chấp nhận lâm sàng và tương thích sinh học đã được thiết lập.

#### A.3 Mẫu thử

Các quy định chung cho việc chuẩn bị mẫu thử nghiệm và đối chứng được mô tả trong 4.2. Kích thước cấy ghép dựa trên kích thước của động vật thử nghiệm. Sau đây phải được coi là kích thước tối thiểu.

- a) Khi sử dụng đĩa, các mẫu thử có đường kính từ 10 mm đến 12 mm và độ dày từ 0,3 mm đến 1,0 mm.

CHÚ THÍCH: Vị trí dưới da, vùng cơ ở mô mỡ hạ bì, đặc biệt thích hợp để đánh giá vật liệu tấm polyme. Tại một vị trí trong cơ bắp, vật liệu tấm có thể bị gấp lại, điều này gây khó khăn cho việc đánh giá tác động của vật liệu.

- b) Khi sử dụng thanh và ống hình trụ, các mẫu thử phải có đường kính 1,5 mm đến 2 mm, dài từ 5 mm đến 10 mm và có đầu tròn.
- c) Các mẫu không rắn (bao gồm cả mẫu bột) phải được chuẩn bị trong các ống có đường kính 1,5 mm và dài 5 mm (xem 4.2). Nếu thích hợp, những vật liệu này có thể được cấy trực tiếp vào các mô. Tuy nhiên, một điểm đánh dấu vị trí được khuyến nghị cho các vật liệu có thể hấp thụ.

## TCVN 7391-6:2020

d) Các kích thước khác tương thích về mặt giải phẫu có thể được sử dụng, khi tiến hành các xét nghiệm cấy ghép kết hợp với các nghiên cứu độc tính toàn thân với các mẫu liên quan đến lâm sàng.

### A.4 Động vật thử và vị trí cấy ghép

Vật cấy ghép phải được chèn vào mô dưới da của chuột nhắt, chuột cống trắng, chuột lang hoặc thỏ. Chọn một trong số các loài này theo các quy định của TCVN 7391-2 (ISO 10993-2).

Sử dụng ít nhất ba động vật cho mỗi vật liệu và các vị trí đủ để mang lại tổng cộng 10 thử nghiệm và 10 mẫu đối chứng cho mỗi vật liệu và thời gian cấy ghép. Khi nhiều mẫu mô được lấy từ một vị trí cấy ghép, các phần cho mô học phải cách nhau ít nhất 1 cm.

Các mẫu mô được đánh giá cho một vật liệu phải có nguồn gốc từ ít nhất ba động vật. Một mẫu đối chứng không thể hấp thụ phải được đánh giá tại mỗi thời điểm. Một thời điểm đối chứng duy nhất được chấp nhận với điều kiện một bằng chứng khoa học có thể chấp nhận được ghi lại, trong đó sẽ giải quyết các vấn đề sau:

- mẫu đối chứng;
- thời gian cấy ghép;
- loại động vật;
- đề cương nghiên cứu;
- dữ liệu đối chứng lịch sử.

### A.5 Quy trình cấy ghép

#### A.5.1 Quy định chung

Chọn một trong các quy trình được mô tả trong A.5.2 và A.5.3.

#### A.5.2 Cấy ghép dọc theo đường giữa lưng

Rạch một vết mổ trên da và tạo một hoặc nhiều túi dưới da bằng cách dùng lưỡi dao mổ. Đé của túi phải cách đường rạch hơn 10 mm. Đặt một vật cấy ghép trong mỗi túi. Các vật cấy ghép phải không thể chạm vào nhau. Ngoài ra, cả hai sườn có thể được sử dụng.

CHÚ THÍCH: Ngoài ra, vật cấy ghép có thể được chuyễn bằng kim có nòng đến vị trí mong muốn hoặc, khi được chỉ định, có thể thực hiện nhiều vết mổ nhỏ.

### A.5.3 Cấy ghép ở cổ

Ở chuột nhắt, rạch một đường dài 10 mm phía trên xương cùmg và chuẩn bị một đường hầm dưới da về phía cổ bằng lưới dao mổ. Đẩy một vật cấy ghép qua đường hầm để đặt nó ở cổ<sup>[23] [24]</sup>.

Ở chuột cống trắng, chèn một vật cấy ghép của từng vật liệu đối chứng và dự định riêng biệt ở mỗi bên cổ. Các vật cấy ghép phải không thể chạm vào nhau. Ngoài ra, cả hai sườn và/hoặc chân sau có thể được sử dụng.

Ở một khoảng cách nào đó từ vật cấy ghép, đóng đường hầm bằng các mũi khâu bằng vật liệu khâu phù hợp để ngăn chặn vật cấy ghép di chuyển.

### A.6 Thời gian cấy ghép

Để đảm bảo trạng thái ổn định của phản ứng mô sinh học, các giai đoạn cấy ghép phải được chọn theo quy định trong 5.3.

### A.7 Đánh giá phản ứng sinh học

Việc đánh giá phải tiến hành theo các mục quy định tại Điều 5.

### A.8 Báo cáo thử nghiệm

Việc trình bày các kết quả thử nghiệm và báo cáo thử nghiệm cuối cùng phải bao gồm các mục được quy định tại Điều 6 và phải bao gồm các chứng minh cho các phương pháp cụ thể được chọn.

## Phụ lục B

(quy định)

### Phương pháp thử đối với cây ghép trong cơ bắp

#### B.1 Lĩnh vực ứng dụng

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

#### B.2 Nguyên tắc

Vật cấy ghép được đưa vào cơ bắp của động vật thử nghiệm. Phản ứng sinh học đối với cấy ghép mẫu thử được so sánh với phản ứng sinh học đối với cấy ghép mẫu đối chứng. Các vật liệu đối chứng là những vật liệu được sử dụng trong các trang thiết bị y tế có đặc điểm chấp nhận lâm sàng và tương thích sinh học đã được thiết lập.

#### B.3 Mẫu thử

Các quy định chung để chuẩn bị mẫu thử nghiệm và đối chứng được mô tả trong 4.2. Kích thước cấy ghép dựa trên kích thước của nhóm cơ được chọn.

Đối với cơ bắp thỏ, vật cấy ghép có chiều rộng từ 1 mm đến 3 mm với chiều dài khoảng 10 mm thường được sử dụng. Ngoài ra, các mẫu lớn hơn có đường kính lên tới 10 mm và độ dày 3 mm có thể được phẫu thuật cấy ghép.

Các kích thước khác tương thích về mặt giải phẫu có thể được sử dụng, khi tiến hành các phép thử cấy ghép kết hợp với nghiên cứu độc tính toàn thân với các mẫu liên quan đến lâm sàng.

Các mẫu phải có bờ tròn và các đầu mẫu tròn đầy đặn.

#### B.4 Động vật thử và vị trí cấy ghép

Đảm bảo rằng các cơ có kích thước đủ để chứa các mẫu cấy ghép. Chỉ sử dụng một loài cho mỗi thử nghiệm. Chèn mô cấy ghép vào cơ của động vật đang được gây mê.

CHÚ THÍCH: Các cơ cạnh cột sống của thỏ là các vị trí cấy ghép ưa thích. Ngoài ra, đối với các mẫu nhỏ hơn, có thể sử dụng cơ mông của chuột cống trắng hoặc cơ đùi của thỏ.

Sử dụng ít nhất ba động vật và các vị trí cấy ghép đủ để mang lại tổng cộng 10 mẫu thử nghiệm và 10 mẫu đối chứng cho mỗi giai đoạn cấy ghép.

Các mẫu thử nghiệm và đối chứng được đánh giá phải từ ít nhất ba động vật khác nhau.

Trong trường hợp vật liệu đối chứng so sánh được dự kiến sẽ gợi ra nhiều hơn một phản ứng tối thiểu, hãy sử dụng vật liệu đối chứng bổ sung được biết để gợi lên phản ứng mô tối thiểu ở vị trí đối diện với vật liệu thử.

Một mẫu đối chứng không hấp thụ phải được đánh giá tại mỗi thời điểm. Một thời điểm đối chứng duy nhất được chấp nhận với điều kiện một bằng chứng khoa học có thể chấp nhận được ghi lại, trong đó phair giải quyết các vấn đề sau:

- mẫu đối chứng;
- thời gian cấy ghép;
- loại động vật;
- đề cương nghiên cứu;
- dữ liệu đối chứng lịch sử.

### **B.5 Quy trình cấy ghép**

Cấy ghép phải bằng kim tiêm dưới da hoặc kim có nòng. Đối với cấy ghép lớn hơn, các kỹ thuật cấy ghép phẫu thuật thích hợp khác có thể được sử dụng.

Thử nghiệm cấy ghép mẫu vào cơ thể với trục dài song song với các sợi cơ.

Đối với cơ bắp thỏ, cấy ghép đủ các mẫu vật liệu thử dọc theo một bên của cột sống, cách đường giữa sống lưng 25 mm đến 50 mm và song song với cột sống và cách nhau khoảng 25 mm. Theo cách tương tự, cấy ghép đủ các mẫu vật liệu đối chứng vào cơ đối diện của mỗi động vật.

### **B.6 Thời gian cấy ghép**

Để đảm bảo trạng thái ổn định của phản ứng mô sinh học, thời gian cấy ghép phải theo quy định trong 5.3.

### **B.7 Đánh giá phản ứng sinh học**

Việc đánh giá phải tiến hành theo các yêu cầu quy định trong 5.5.

### **B.8 Định dạng báo cáo thử nghiệm**

Việc trình bày kết quả thử nghiệm và báo cáo thử nghiệm cuối cùng phải bao gồm các yêu cầu quy định tại Điều 6.

**Phụ lục C**  
(quy định)

**Phương pháp thử đối với cấy ghép trong xương**

**C.1 Lĩnh vực ứng dụng**

Phương pháp thử này được sử dụng để đánh giá phản ứng sinh học của mô xương với vật liệu cấy ghép. Vị trí cấy ghép trong xương xốp (bộ xương xốp) hoặc xương đặc nên được lựa chọn phù hợp với việc sử dụng cuối cùng của vật liệu.

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

**C.2 Nguyên tắc**

Vật cấy ghép được đưa vào mô xương của động vật thử nghiệm. Phản ứng sinh học đối với cấy ghép mẫu thử được so sánh với phản ứng sinh học đối với cấy ghép mẫu đối chứng. Các vật liệu đối chứng là những vật liệu được sử dụng trong các trang thiết bị y tế trong đó các đặc tính chấp nhận lâm sàng và tương thích sinh học đã được thiết lập.

**C.3 Mẫu thử**

**C.3.1 Quy định chung**

Các quy định chung để chuẩn bị mẫu thử nghiệm và đối chứng được quy định trong 4.2.

**C.3.2 Hình dạng của mẫu cấy ghép**

Các mẫu rắn có thể có dạng đinh vít hoặc ren xoắn để cung cấp sự ổn định ban đầu của vật cấy ghép trong xương. Nếu không tạo được dạng đinh vít, thì có thể dùng dạng hình trụ.

Các dạng mẫu khác (ví dụ: thanh, bột nhào) có thể được sử dụng tùy thuộc vào bản chất của vật liệu và mục tiêu nghiên cứu.

**C.3.3 Kích thước mẫu thử**

Kích thước vật cấy ghép dựa trên kích thước của động vật thử nghiệm và xương được chọn. Các kích thước điển hình sau đây phải được xem xét đối với cấy ghép trong xương vỏ trục giữa.

- a) **Thỏ:** vật cấy ghép hình trụ đường kính 2 mm và dài 6 mm;
- b) **Chó, cừu và dê:** vật cấy ghép hình trụ có đường kính 4 mm và dài 12 mm;
- c) **Thỏ, chó, cừu, dê và lợn:** vật cấy ghép kiểu vít chỉnh hình trong xương 2 mm đến 4,5 mm;



Các kích thước khác tương thích về mặt giải phẫu có thể được sử dụng, khi tiến hành các xét nghiệm cấy ghép kết hợp với nghiên cứu độc tính toàn thân với các mẫu liên quan đến lâm sàng.

#### C.4 Động vật thử và vị trí cấy ghép

##### C.4.1 Động vật thử

Vật cấy ghép phải được đưa vào xương của loài gặm nhấm, chó, cừu, dê, lợn hoặc thỏ: Chọn một trong số các loài này phù hợp với các nguyên tắc được quy định trong TCVN 7391-2 (ISO 10993-2). Sự khác biệt về loài rất quan trọng trong sinh lý xương và cần được đánh giá trước khi tiến hành cấy ghép. Ngoài ra, chất lượng xương có thể khác nhau giữa các động vật không có mục đích cùng loài và mật độ xương có thể được yêu cầu để xác định động vật thử nghiệm phù hợp và để giải thích kết quả xét nghiệm. Lựa chọn phải được chứng minh và lập thành văn bản.

##### C.4.2 Vị trí cấy ghép

Vị trí giải phẫu tương đương phải được sử dụng cho các mẫu thử nghiệm và đối chứng. Vật cấy ghép thử nghiệm phải đối lập với vật cấy ghép đối chứng. Chọn vị trí cấy ghép để giảm thiểu rủi ro di động của vật cấy ghép. Ít nhất 10 mẫu thử nghiệm và 10 mẫu đối chứng phải được đánh giá cho từng giai đoạn cấy ghép. Các mẫu mô được đánh giá cho một vật liệu phải có nguồn gốc từ ít nhất ba động vật.

Một mẫu đối chứng không hấp thụ phải được đánh giá tại mỗi thời điểm. Một thời điểm đối chứng duy nhất được chấp nhận với điều kiện một bằng chứng khoa học có thể chấp nhận được ghi lại, trong đó phải giải quyết các vấn đề sau:

- mẫu đối chứng;
- thời gian cấy ghép;
- loại động vật;
- đề cương nghiên cứu;
- dữ liệu đối chứng lịch sử.

Xương đùi và xương chày thường được sử dụng. Các vị trí khác có thể phù hợp.

Số lượng các vị trí cấy ghép phải như sau:

- a) Trong mỗi con thỏ phải có tối đa sáu vị trí cấy ghép:
  - ba cho mẫu thử;
  - ba cho mẫu đối chứng.

## **TCVN 7391-6:2020**

b) Trong mỗi con chó, cừu, dê hoặc lợn, sẽ có tối đa 12 vị trí cấy ghép:

- sáu cho mẫu thử;
- sáu cho các mẫu đối chứng.

Không chèn quá 12 mẫu vào bất kỳ một con vật nào.

Kích thước, khối lượng và tuổi của động vật và vị trí cấy ghép được chọn phải đảm bảo rằng vị trí cấy ghép không gây ra nguy cơ gây xương bệnh lý của vị trí thử nghiệm. Ở động vật còn non, điều đặc biệt quan trọng là phải đảm bảo tránh khu vực biểu mô hoặc xương chưa trưởng thành khác.

### **C.5 Quy trình cấy ghép**

Thực hiện chuẩn bị xương bằng cách sử dụng tốc độ khoan thấp và khoan không liên tục, sử dụng tưới nhiều dung dịch muối sinh lý và hút, vì nhiệt độ cao sẽ dẫn đến hoại tử mô tại chỗ.

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

Để lộ vỏ của mỗi xương đùi hoặc xương chày và khoan số lượng lỗ thích hợp để chứa các vật cấy ghép. Đối với thỏ, chuẩn bị tối đa ba lỗ; đối với các động vật lớn hơn chuẩn bị lên đến sáu lỗ. Khoan rộng đến đường kính cuối cùng hoặc tháo sợi hình vít trước khi chèn vào. Chèn vật cấy ghép hình trụ bằng áp lực nhấn của ngón tay. Siết chặt mô cấy ghép hình đỉnh vít tại chỗ bằng một thiết bị có thể truyền mô-men xoắn định trước. Ghi lại mô-men xoắn.

### **C.6 Thời gian cấy ghép**

Để đảm bảo trạng thái ổn định của phản ứng mô sinh học, thời gian cấy ghép phải theo quy định trong 5.3.

### **C.7 Đánh giá phản ứng sinh học**

Việc đánh giá phải tiến hành theo các yêu cầu quy định trong 5.5.

### **C.8 Báo cáo thử nghiệm**

Việc trình bày kết quả thử nghiệm và báo cáo thử nghiệm cuối cùng phải bao gồm các yêu cầu quy định tại Điều 6.

## Phụ lục D

(quy định)

### Phương pháp thử đối với cấy ghép mô não

#### D.1 Lĩnh vực ứng dụng

Phương pháp thử này được sử dụng để đánh giá phản ứng sinh học của mô não với vật liệu cấy ghép. Vị trí cấy ghép trong não nên được lựa chọn phù hợp với việc sử dụng cuối cùng của vật liệu.

Vật liệu cho trang thiết bị can thiệp thần kinh, tiếp xúc với thành mạch nhưng không trực tiếp với mô thần kinh, phải được đánh giá theo TCVN 7391-4 (ISO 10993-4).

VÍ DỤ: Một điện cực được cấy ghép vào não, các ống dẫn để điều chỉnh, dẫn lưu não ứng thủy.

#### D.2 Nguyên tắc

Vật cấy ghép được đưa vào mô thần kinh của động vật thử nghiệm. Phản ứng sinh học đối với cấy ghép mẫu thử được so sánh với phản ứng sinh học đối với cấy ghép mẫu đối chứng. Các vật liệu đối chứng là những vật liệu được sử dụng trong các trang thiết bị y tế có đặc điểm chấp nhận lâm sàng và tương thích sinh học đã được thiết lập.

#### D.3 Mẫu thử nghiệm

##### D.3.1 Quy định chung

Các quy định chung để chuẩn bị mẫu thử nghiệm và đối chứng được mô tả trong 4.2.

Một mẫu đối chứng không hấp thụ phải được đánh giá tại mỗi thời điểm. Một thời điểm đối chứng duy nhất được chấp nhận với điều kiện một bằng chứng khoa học có thể chấp nhận được ghi lại, trong đó phair giải quyết các vấn đề sau:

- mẫu đối chứng;
- thời gian cấy ghép;
- loại động vật;
- đề cương nghiên cứu;
- dữ liệu đối chứng lịch sử.

## TCVN 7391-6:2020

Trong trường hợp mẫu thử được dự kiến sẽ gọi ra nhiều hơn một phản hồi tối thiểu, một đối chứng thay thế sử dụng vật liệu so sánh có đáp ứng chấp nhận được có thể được chọn. Việc sử dụng vật liệu đối chứng so sánh phải được chứng minh về mặt tính chất vật liệu và mục đích sử dụng.

### D.3.2 Kích thước và hình dạng cây ghép

Kích thước cây ghép dựa trên các loài động vật và địa điểm được chọn. Các kích thước điển hình sau đây phải được xem xét cho chuột cống trắng và thỏ.

#### Nội mô

- thanh cây ghép hình que hoặc hình nêm: đường kính/tiết diện từ 1 mm × 1 mm trở xuống và chiều dài từ 2 mm đến 6 mm;
- một đĩa đường kính 8 mm có thể thích hợp.

Độ dày của đĩa phải được chứng minh liên quan đến việc sử dụng vật liệu. Đối với các trang thiết bị y tế có ý định tiếp xúc chủ yếu với bề mặt nhu mô, vật phẩm thử nghiệm phải được cấy ghép trên bề mặt nhu mô.

## D.4 Động vật thử nghiệm và vị trí cấy ghép

### D.4.1 Động vật thử nghiệm

Thủ tục này dành cho các nghiên cứu sử dụng chuột cống trắng hoặc thỏ. Nếu các loài khác được sử dụng dựa trên các xem xét trang thiết bị, việc sửa đổi thủ tục có thể là cần thiết. Cả hai giới tính nên được đại diện với số lượng bằng nhau trừ khi có đủ lý do cho một giới tính được cung cấp.

Phải sử dụng động vật khỏe mạnh và không phải tuân theo các quy trình thí nghiệm trước đó. Các loài và tuổi là các yếu tố quan trọng để xem xét dựa trên sự khác biệt về sinh lý thần kinh và phản ứng sinh học và cần được đánh giá trước khi các quy trình cấy ghép được bắt đầu.

### D.4.2 Vị trí cấy ghép

Cần có tối thiểu 8 phép thử và 8 vị trí đối chứng âm tính tại mỗi thời điểm (chia đều giữa đực và cái) để cho phép đánh giá hiệu ứng thần kinh tại chỗ. Vị trí giải phẫu tương đương phải được sử dụng cho các mẫu thử nghiệm và đối chứng. Lựa chọn cẩn thận vị trí cấy ghép và quy trình phẫu thuật là rất quan trọng để giảm thiểu nguy cơ chấn thương cơ học. Chỉ một bán cầu phải được cấy cho mỗi động vật và chỉ bao gồm một loại cấy ghép là thử nghiệm hoặc đối chứng. Một vị trí trên mỗi bán cầu có thể được cấy ghép vào mỗi con chuột và hai vị trí có thể được cấy ghép vào mỗi con thỏ.

Với nhiều thiết kế cấy ghép trong xương, cơ và dưới da, vật liệu thử nghiệm và đối chứng thường được cấy ghép vào cùng một động vật. Tuy nhiên, với các vật liệu được đặt trong các mô thần kinh, các phản ứng của mô không phải lúc nào cũng được định vị, nhưng có thể ảnh hưởng đến một vùng rộng và thậm chí có thể biểu hiện trên khắp bán cầu não. Trong các loại động vật thí nghiệm chấn thương não, microglia có thể được cảm ứng để di chuyển dọc theo vỏ bọc myelin của corpus callosum đến bán cầu đối diện. Do đó, microglia được cấy ghép có thể di chuyển qua corpus callosum và ảnh hưởng đến phản ứng sinh học ở phía đối diện. Điều này có thể phục vụ để làm trầm trọng thêm phản ứng đối với một vị trí cấy ghép đối chứng âm tính, dẫn đến sự thay đổi trong phản ứng cơ bản. Ngoài ra, ảnh hưởng từ chấn thương bán cầu đối xứng có thể làm trầm trọng thêm phản ứng chấn thương tại vị trí cấy ghép vật phẩm thử nghiệm. Trong trường hợp đầu tiên, người ta có thể chuyển phản ứng cơ bản bình thường sang vật liệu đối chứng âm tính, dẫn đến kết quả âm tính giả cho vật phẩm thử nghiệm. Trong trường hợp thứ hai, phản ứng xảy ra ở bán cầu đối diện có thể làm trầm trọng thêm phản ứng đối với một "vật phẩm thử nghiệm" trên đường dẫn đến kết quả dương tính giả. Với số lượng nhỏ động vật cần thiết để thử nghiệm, khả năng đối chứng các yếu tố đó và để giảm sự biến đổi của dữ liệu là rất quan trọng. Như vậy, rất hữu ích khi có động vật thử nghiệm và đối chứng riêng biệt. Sự khác biệt giới tính đã được ghi nhận trong các phản ứng có thể liên quan đến đánh giá phản ứng với các trang thiết bị cấy ghép (xem Tài liệu tham khảo<sup>[43]</sup>, <sup>[44]</sup> và <sup>[45]</sup>). Để đối chứng sự thay đổi tiềm năng do sự khác biệt giới tính, số lượng đực và cái tương tự của mỗi loài và chủng nên được sử dụng cho nghiên cứu.

## D.5 Quy trình cấy ghép

Mỗi con vật nên được cân trước khi cấy ghép và định kỳ sau đó. Sau khi giảm đau và gây mê thích hợp, phẫu thuật chuẩn bị hộp sọ của động vật. Giảm đau ổn định và gây mê phải được duy trì trong suốt quá trình phẫu thuật đầy đủ và trong một khoảng thời gian xác định sau khi cấy ghép.

Động vật nên được hạn chế thích hợp trong quá trình hoạt động. Sử dụng các kỹ thuật phẫu thuật vô trùng, hộp sọ được lộ ra và các lỗ có đủ đường kính tương tự để chèn các mẫu cấy ghép được thực hiện trong sọ. Ngoài ra, một lỗ nhỏ được chuẩn bị trong màng cứng và vật cấy ghép được nhẹ nhàng đưa vào phần thích hợp của não.

Kỹ thuật phẫu thuật ảnh hưởng sâu sắc đến kết quả của bất kỳ quy trình cấy ghép nào vì mức độ nghiêm trọng của phản ứng chấn thương (cả thần kinh đệm và tế bào thần kinh) có liên quan đến mức độ chấn thương vật lý và có thể khiến một nghiên cứu không thể giải thích được (xem Tài liệu tham khảo<sup>[45]</sup>, <sup>[46]</sup>, và <sup>[48]</sup>).

## TCVN 7391-6:2020

Các phương pháp lập thể có thể cho phép mức độ kiểm soát đáng kể liên quan đến vị trí chính xác và giảm thiểu thiệt hại vật lý cho vị trí đâm thủng. Một phương pháp kiểm soát thay thế để kiểm chế động vật có thể được xem xét.

### D.6 Thời gian cấy ghép

Một khoảng thời gian cấy ghép một tuần là cần thiết, cũng như các khoảng thời gian thích hợp khác, để đặc trưng đầy đủ cho phản ứng. Các quá trình phân hủy thần kinh có thể nhanh chóng và thoáng qua vì sự chết tế bào có thể xảy ra trong vài ngày đầu sau khi dùng thuốc, như thể hiện với một số hóa chất (xem Tài liệu tham khảo<sup>[45]</sup>).

Thời gian cấy ghép dài hơn phải được xem xét trong quan điểm các ứng dụng lâm sàng của vật liệu.

### D.7 Quan sát sau cấy ghép

Động vật ban đầu nên được nuôi riêng lẻ và quan sát hai lần mỗi ngày để đảm bảo chữa lành đúng vị trí cấy ghép, trở lại hành vi ăn uống bình thường và cho bất kỳ dấu hiệu lâm sàng bất thường nào do quy trình phẫu thuật. Tần số quan sát được điều chỉnh dựa trên những quan sát ban đầu. Nếu động vật được điều trị bằng kháng sinh, điều này cần được nêu rõ vì một số hợp chất như minocycline có thể điều chỉnh trực tiếp phản ứng của microglia não và đại thực bào (xem Tài liệu tham khảo<sup>[49]</sup>).

Vì tổn thương mô thần kinh có thể dẫn đến hành vi bất thường, nên đưa vào quan sát lâm sàng trong đánh giá tác động của cấy ghép não.

Một cuộc kiểm tra thể chất chi tiết (hàng tuần) phải được thực hiện trên mỗi con vật để theo dõi sức khỏe nói chung. Các quan sát phải được ghi lại và bao gồm tất cả các dấu hiệu lâm sàng bất thường, hành vi bất thường hoặc các biểu hiện hệ thống thần kinh trung ương hoặc hệ thống thần kinh trung ương của cấy ghép. Để giúp đánh giá rối loạn hệ thần kinh trung ương, có thể sử dụng pin quan sát chức năng (FOB) hoặc Irwin sửa đổi. Các dấu hiệu lâm sàng có thể bao gồm, nhưng không giới hạn ở những thay đổi ở da, lông, mắt hoặc màng nhầy và sự xuất hiện của dịch tiết và bài tiết hoặc bằng chứng khác về hoạt động tự chủ (ví dụ như chảy nước mắt, nổi da gà, kích thước đồng tử, kiểu hô hấp bất thường). Ngoài ra, những thay đổi về dáng đi, tư thế và phản ứng với việc xử lý, cũng như sự thể hiện của chứng cơ co hoặc cơ giết căng cơ, hành động rập khuôn (ví dụ: chải chuốt thái quá, quay vòng lặp đi lặp lại) hoặc hành vi kỳ quái (ví dụ như tự gây thương tích, đi giết lùi) sẽ được ghi lại. Đối với hành vi và dấu hiệu thần kinh, thời gian quan sát đầu tiên và tiến triển hoặc giải quyết tiếp theo nên được ghi lại. Phát hiện ban đầu về hành vi bất thường, các dấu hiệu thần kinh, tham vọng, tư thế hoặc phản xạ sẽ bắt đầu một lịch trình quan sát hàng ngày cho các dấu hiệu liên quan.

Điểm cuối để loại bỏ sớm một con vật khỏi thử nghiệm nên được đặt trước khi thử nghiệm. Một khi các tác dụng lâm sàng nghiêm trọng đã được xác định, bác sĩ thú y trong phòng thí nghiệm tham dự hoặc đủ điều kiện, hoặc nhân viên được đào tạo để xác định các tổn thương lâm sàng, nên được tư vấn để kiểm tra lâm sàng. Bác sĩ thú y trong phòng thí nghiệm tham dự hoặc đủ điều kiện nên xác định xem có nên loại bỏ động vật thử nghiệm ra khỏi xét nghiệm và được phú dưỡng hay không.

#### D.8 Đánh giá phản ứng sinh học

Việc đánh giá phải tiến hành theo các yêu cầu quy định trong 5.5.

Tất cả các thay đổi gộp được quan sát theo phương pháp quan sát bằng mắt thường, phải được đánh giá thêm bằng kính hiển vi. Cố định tưới máu mạch máu nên được sử dụng khi có thể để làm giảm sự cố định ngấm trong mô. Ngoài ra, (dẫn lưu) các hạch bạch huyết cổ tử cung phải được kiểm tra tổng thể, ngâm cố định và kiểm tra bằng kính hiển vi. Các mô não từ các động vật trong các nhóm đối chứng và điều trị phải được kiểm tra. Ngoài ra, các mô từ động vật chết sớm hoặc bị chết trong quá trình nghiên cứu phải được kiểm tra tổng thể và mọi tổn thương phải được kiểm tra bằng kính hiển vi.

Việc đánh giá bệnh lý thần kinh nên đánh giá các mô cho bệnh tăng sinh thần kinh đệm và phân hủy thần kinh bằng cách sử dụng các vết bản mô học thích hợp, các chỉ số sinh hóa của tổn thương hoặc cả hai. Việc sử dụng một chỉ số vết/tổn thương cụ thể cần được ghi lại và hỗ trợ với các tài liệu tham khảo đánh giá ngang hàng thích hợp mô tả các vết bản được sử dụng trong việc đánh giá phân hủy thần kinh hoặc tăng sinh thần kinh đệm. Các vết bản và điểm đánh dấu sinh học sau đây là những ví dụ có thể được sử dụng để đánh giá hiệu quả mô bệnh học của cây ghép (xem Tài liệu tham khảo<sup>[50]</sup>).

**Bảng D.1 - Ví dụ về điểm đánh dấu sinh học và vết bản não**

Vết bản và điểm đánh dấu sinh học	Loại tế bào hoặc thành phần tế bào được đánh giá
Hematoxylin và eosin (H & E)	Tất cả các mô thần kinh và hạch bạch huyết
Fluoro-jade	Phân hủy tế bào thần kinh
Tự động phát quang	Thần kinh
Kháng thể kháng axit fibrillary axit fibrillary (GFAP)	GFAP (điểm đánh dấu sinh học astrocyte)
Kháng thể kháng iba-1	Phân tử bộ chuyển đổi liên kết canxi ion hóa 1 (đặc hiệu microglia)
Luxol nhanh màu xanh	Myelin
Vết amino cupric bạc	Phân hủy tế bào thần kinh

## TCVN 7391-6:2020

Kháng thể cụ thể không có sẵn cho tất cả các loài.

Hình ảnh có độ phân giải cao từ các vị trí cấy ghép cần được cung cấp là đại diện cho chẩn đoán bệnh học hoặc quan sát điểm số và có thể chứng minh chi tiết hình thái học của phản ứng tế bào cụ thể đối với vật cấy ghép.

Các quần thể tế bào cụ thể phải được xác định. Hình ảnh nên bao gồm một thanh tỷ lệ cho thấy độ phóng đại.

Nhà nghiên cứu bệnh học nên xác định các tiêu chí và đặc điểm tế bào được sử dụng để xác định tình trạng viêm. Các thông số định tính và định lượng nên được xác định trước. Một ví dụ về hệ thống tính điểm cho những thay đổi viêm trong mô thần kinh được nêu trong Bảng E.4

Tiêu chí tế bào - xác định các loại tế bào chính hoặc cấu trúc liên quan đến phản ứng sinh học, chẳng hạn như tế bào hình sao, bạch cầu trung tính, tế bào microglia, sợi và myelin. Xác định các đặc điểm của phản ứng hình thái học của microglia và tế bào hình sao, chẳng hạn như process-bearing, phi đại, giảm sự phân nhánh trong tiến trình của hình thái amip để xác định giai đoạn của phản ứng microglia. Xác định sự có mặt của các tế bào giống như đại thực bào. Khi được chỉ định, sử dụng nhuộm đặc hiệu tế bào.

Các đặc điểm sau đây trong mô xung quanh mô cấy phải được giải quyết:

- a) sự gián đoạn trong các quá trình tế bào thần kinh xung quanh cấy ghép;
- b) vùng tế bào hình sao và mô liên kết xung quanh mô cấy;
- c) tăng số lượng mạch máu lớn;
- d) tế bào lympho xâm nhập;
- e) kích hoạt microglia - trong một đặc tính staging;
- f) hình thành nang, sự có mặt của các tế bào khổng lồ và đại thực bào;
- g) các vùng khoáng hóa/vôi hóa;
- h) thay đổi trong lớp biểu mô và thay đổi như trên trong các mô hạt màng nhện.

Ngoài ra, có thể hữu ích khi kiểm tra bộ não liền kề với rãnh cấy ghép (~ 3 mm, cùng bên) và não cách xa rãnh cấy ghép.

Các thông số cho não liền kề với rãnh cấy ghép bao gồm:

- tế bào viêm/thâm nhiễm;
- xuất huyết;
- hoại tử;
- tăng sinh thần kinh đệm, chất xám;



- tăng sinh thần kinh đệm, chất trắng;
- khác.

Các thông số cho não cách xa đường cấy ghép bao gồm các hiệu ứng không tại chỗ khác từ mỗi động vật.

#### **D.9 Báo cáo thử nghiệm**

Việc trình bày kết quả thử nghiệm và báo cáo thử nghiệm cuối cùng phải bao gồm các yêu cầu quy định tại Điều 6 và ngoài ra, như sau:

- hình ảnh độ phân giải cao đại diện của các mô xung quanh vị trí cấy ghép;
- một tường thuật mô tả của từng vị trí cấy ghép;
- một điểm bán định lượng.

**Phụ lục E**  
(tham khảo)

**Ví dụ về đánh giá hiệu quả sinh học tại chỗ sau khi cấy ghép**

**E.1 Quy định chung**

Để biết ví dụ về hệ thống tính điểm bán định lượng và định lượng, xem Tài liệu tham khảo<sup>[17], [18], [20], [25] và [26]</sup>.

Đối với mỗi đặc điểm mô học được đánh giá (như sự hình thành nang, tình trạng viêm, sự có mặt của các tế bào đa hình, tế bào khổng lồ, tế bào plasma và/hoặc sự phân hủy của vật liệu), hệ thống tính điểm bán định lượng được sử dụng phải được mô tả trong báo cáo đánh giá. Ngoài việc chấm điểm của các thành phần phản ứng, mức độ của toàn bộ phản ứng cũng cần được đánh giá.

Một số ví dụ về các hệ thống tính điểm bán định lượng như vậy được mô tả bên dưới và trong Tài liệu tham khảo<sup>[21], [25], [26], [31] và [40]</sup>. Hệ thống đánh giá theo quy định trong Bảng E.1 và Bảng E.2 có thể được chuyển đổi thành hệ thống đánh giá cấy ghép như được quy định trong Bảng E.3. Một ví dụ về hệ thống đánh giá mô học cho các phản ứng mô thần kinh được cung cấp trong Bảng E.4.

Trong sơ đồ chấm điểm bán định lượng này, thâm nhiễm tế bào viêm và hoại tử được ghi bằng cách sử dụng sơ đồ cho điểm trong Bảng E.1. Neov Circuitization, xơ hóa và thâm nhiễm mỡ được ghi bằng cách sử dụng sơ đồ tính điểm trong Bảng E.2. Trong ví dụ Bảng E.3, do tầm quan trọng lớn hơn của thâm nhiễm tế bào viêm và hoại tử, các tham số này (xem Bảng E.1) được nhân với hệ số 2 để cung cấp giá trị trọng số so với neov Circuitization, xơ hóa và mỡ thâm nhiễm (xem Bảng E.2). Các giá trị được tính tổng, và sau đó tính điểm trung bình cho các phương pháp điều trị thử nghiệm và đối chứng được tính toán. Điểm trung bình cho điều trị đối chứng được trừ vào trung bình điều trị thử nghiệm để xác định mức độ phản ứng dựa trên thang điểm trong Bảng E.3.

Báo cáo nghiên cứu nên bình luận về từng loại tế bào và phản ứng kích thích mao mạch mới phát triển. Đối với mỗi loại tế bào có sự khác biệt đáng kể về giá trị giữa vị trí điều trị và đối chứng, báo cáo nghiên cứu cần giải thích sự liên quan của sự khác biệt.

Một ví dụ về hệ thống tính điểm được sử dụng để đánh giá sinh học các vật liệu có thể hấp thụ được mô tả trong Tài liệu tham khảo<sup>[20]</sup>.

Bảng E.1 - Ví dụ về hệ thống đánh giá mô học - Loại/phản ứng của tế bào

Loại tế bào/phản ứng	Điểm				
	0	1	2	3	4
Tế bào đa hình	0	Hiếm, 1 đến 5/phf <sup>a</sup>	5 đến 10/phf	Xâm nhập nặng	Đã đóng gói
Tế bào lympho	0				
Tế bào plasma	0				
Đại thực bào	0				
Tế bào khổng lồ	0	Hiếm, 1 đến 2/phf	3 đến 5/phf		Tám
Hoại tử	0	Tối thiểu	Nhẹ	Vừa phải	Nặng

<sup>a</sup> phf = trên trường nhìn khuếch đại lớn (400 lần).

Bảng E.2 - Ví dụ về hệ thống đánh giá mô học - Phản ứng mô

Phản ứng	Điểm				
	0	1	2	3	4
Phản ứng thần kinh	0	Tăng sinh mao mạch tối thiểu, tiêu điểm, 1 đến 3 chồi	Nhóm 4 đến 7 mao mạch với các cấu trúc nguyên bào sợi hỗ trợ	Dài mao mạch rộng với các cấu trúc nguyên bào sợi hỗ trợ	Dài mao mạch mở rộng với sự hỗ trợ cấu trúc nguyên bào sợi
Xơ hóa	0	Băng hẹp	Dài dày vừa phải	Băng dày	Băng mở rộng
Chất béo xâm nhập	0	Lượng chất béo tối thiểu liên quan đến xơ hóa	Một số lớp mỡ và xơ hóa	Sự tích tụ kéo dài và rộng của các tế bào mỡ về vị trí cây ghép	Chất béo mở rộng hoàn toàn xung quanh mô cấy

Bảng E.3 - Ví dụ về sơ đồ chấm điểm bán định lượng

<b>Mẫu thử nghiệm:</b>	Polyme XYZ					
<b>Khoảng thời gian cấy ghép:</b>	2 tuần					
<b>Mẫu đối chứng:</b>	HDPE					
Số động vật	Mẫu thử nghiệm			Mẫu đối chứng		
	1001	1002	1003	1001	1002	1003
<b>F.1 Viêm</b>						
Tế bào đa hình	2	1	2	1	1	1
Tế bào lympho	1	1	0	0	1	0
Các tế bào plasma	0	0	0	0	0	0
Đại thực bào	2	2	2	1	1	1
Các tế bào khổng lồ	1	1	1	0	0	0
Hạch	0	0	0	0	0	0
<b>TỔNG SỐ (× 2)</b>	12	10	10	4	6	4
<b>F.2 Neoveinization</b>	0	0	0	0	0	0
Xơ hóa	1	1	1	1	1	1
Chất béo xâm nhập	0	0	0	0	0	0
<b>TỔNG SỐ</b>	1	1	1	1	1	1
<b>TỔNG (F.1 và F.2)</b>	13	11	11	5	7	5
<b>TỔNG NHÓM</b>		35			17	
<b>AVERAGE<sup>a</sup></b>	11,7 (-)			5,7 = 6		
Chấn thương hoại tử	0	0	0	0	0	0
Các mảnh vụn ngoại lai	0	0	0	0	0	0
Số lượng cấy ghép được kiểm tra	4	4	4	4	4	4
<sup>a</sup> Được sử dụng để xác định xếp hạng phản ứng hiển thị dưới đây như là kết luận. Một sự khác biệt âm tính được ghi là không. <sup>b</sup> Điểm đánh giá mô học đại diện cho điểm trung bình của con vật đó qua số lượng cấy ghép được kiểm tra. <b>CHÚ THÍCH:</b> Các quan sát bổ sung có thể cần thiết cho các vật liệu có thể phân hủy, tức là mức độ phân hủy.						

## E.2 Kết luận

Trong các điều kiện của nghiên cứu này, mẫu thử nghiệm đã được xem xét để chứng minh những điều sau đây:

- tối thiểu hoặc không có phản ứng (0,0 đến 2,9);
- Phản ứng nhẹ (3,0 đến 8,9);
- phản ứng vừa phải (9,0 đến 15,0);
- phản ứng nghiêm trọng (15,1)

đến mô so với mẫu đối chứng âm tính trong Bảng E.3.

## E.3 Bình luận

Nhận xét bổ sung có thể được thêm vào để cung cấp mô tả về các quan sát về phản ứng mô và/hoặc thay đổi đối với vật liệu cấy ghép, nếu có.

**Bảng E.4 - Ví dụ về hệ thống đánh giá mô học - Phản ứng mô thần kinh**

Đặc điểm mô học	Điểm				
	0	1	2	3	4
Loại tế bào viêm/phản ứng	0	Hiếm, 1 đến 5/hpf <sup>a</sup>	Hiếm, 5 đến 10/hpf	Xâm nhập vừa phải	Đánh dấu xâm nhập
- Tế bào đa hình					
- Tế bào lympho					
Tế bào plasma					
Đại thực bào/tế bào gitter					
Tế bào khổng lồ đa nhân (MGC)	0	Hiếm, 1 đến 2/hpf	Hiếm, 3 đến 5/hpf		
Hoại tử	0	Tối thiểu	Nhẹ	Vừa phải	Đánh dấu
Kích thích mao mạch mới phát triển	0	Tăng sinh mao mạch tối thiểu, tiêu điểm, 1 đến 3 chồi	Nhóm 4 đến 7 mao mạch với các cấu trúc nguyên bào sợi hỗ trợ	Dài mao mạch rộng với các cấu trúc nguyên bào sợi hỗ trợ	Dài mao mạch mở rộng với sự hỗ trợ cấu trúc nguyên bào sợi
Xơ hóa	0	Băng hẹp	Dài dày vừa phải	Ban nhạc dày	Ban nhạc mở rộng
Astrocytosis/thâm nhiễm mỡ					

<sup>a</sup> hpf = trên trường nhìn khuếch đại lớn (400 lần).

Thư mục tài liệu tham khảo

- [1] TCVN 6795-1 (ISO 5832-1), *Vật cấy ghép trong phẫu thuật — Vật liệu kim loại — Phần 1: Thép không gỉ gia công áp lực*
- [2] ISO 5832-2, *Implants for surgery — Metallic materials — Part 2: Unalloyed titanium (Vật cấy ghép trong phẫu thuật — Vật liệu kim loại — Phần 2: Titan nguyên chất)*
- [3] ISO 5832-3, *Implants for surgery — Metallic materials — Part 3: Wrought titanium 6-aluminium 4-vanadium alloy (Vật cấy ghép trong phẫu thuật — Vật liệu kim loại — Phần 3: Hợp kim titan 6-nhôm 4-vanadi titan)*
- [4] ISO 5832-4, *Implants for surgery — Metallic materials — Part 4: Cobalt-chromium-molybdenum casting alloy (Vật cấy ghép trong phẫu thuật — Vật liệu kim loại — Phần 4: Hợp kim đúc coban-crom-molybden)*
- [5] ISO 5832-5, *Implants for surgery — Metallic materials — Part 5: Wrought cobalt-chromiumtungsten-nickel alloy (Vật cấy ghép trong phẫu thuật — Vật liệu kim loại — Phần 5: Hợp kim coban-cromtungsten-niken)*
- [6] ISO 5832-6, *Implants for surgery — Metallic materials — Part 6: Wrought cobalt-nickel-chromiummolybdenum alloy (Vật cấy ghép trong phẫu thuật — Vật liệu kim loại — Phần 6: Hợp kim rèn coban-niken-crommolybdenum)*
- [7] ISO 5832-7, *Implants for surgery — Metallic materials — Part 7: Forgeable and cold-formed cobaltchromium-nickel-molybdenum-iron alloy (Vật cấy ghép trong phẫu thuật — Vật liệu kim loại — Phần 7: Hợp kim sắt cobaltchromium-niken-molybden-sắt rèn và dạng nguội)*
- [8] ISO 5832-8, *Implants for surgery — Metallic materials — Part 8: Wrought cobalt-nickel-chromiummolybdenum-tungsten-iron alloy (Vật cấy ghép trong phẫu thuật — Vật liệu kim loại — Phần 8: Hợp kim rèn coban-niken-crommolybdenum-vonfram-sắt)*
- [9] ISO 5834-2, *Implants for surgery — Ultra-high-molecular-weight polyethylene — Part 2: Moulded forms (Vật cấy ghép trong phẫu thuật — Polyethylen có trọng lượng phân tử cực cao — Phần 2: Dạng đúc)*
- [10] ISO 6474-1, *Implants for surgery — Ceramic materials — Part 1: Ceramic materials based on high purity alumina (Vật cấy ghép trong phẫu thuật — Vật liệu gốm — Phần 1: Vật liệu sứ có nhôm tinh chất cao)*
- [11] ISO 6474-2, *Implants for surgery — Ceramic materials — Part 2: Composite materials based on a high-purity alumina matrix with zirconia reinforcement (Vật cấy ghép trong phẫu thuật — Vật liệu gốm — Phần 2: Vật liệu composite dựa trên một ma trận nhôm độ tinh khiết cao với zirconia tăng cường)*

- [12] ISO 7405, *Dentistry — Evaluation of biocompatibility of medical devices used in dentistry* (Nha khoa — Đánh giá tính tương thích sinh học của các trang thiết bị y tế được sử dụng trong nha khoa)
- [13] ISO 10993-9, *Biological evaluation of medical devices — Part 9: Framework for identification and quantification of potential degradation products* (Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế - Phần 9: Cơ sở để nhận dạng và định lượng các sản phẩm phân hủy tiềm tàng)
- [14] ASTM F748, *Standard Practice for Selecting Generic Biological Test Methods for Materials and Devices* (Tiêu chuẩn thực hành chọn phương pháp thử nghiệm sinh học chung cho vật liệu và thiết bị)
- [15] ASTM F763, *Standard Practice for Short-Term Screening of Implant Materials* (Tiêu chuẩn thực hành sàng lọc ngắn hạn các vật liệu cấy ghép)
- [16] ASTM F981, *Standard Practice for Assessment of Compatibility of Biomaterials for Surgical Implants with Respect to Effect of Materials on Muscle and Bone* (Tiêu chuẩn thực hành đánh giá khả năng tương thích của vật liệu sinh học đối với cấy ghép phẫu thuật hiệu quả của vật liệu trên cơ và xương)
- [17] ASTM F1983, *Standard Practice for Assessment of Selected Tissue Effects of Absorbable Biomaterials for Implant Applications* (Tiêu chuẩn thực hành đánh giá hiệu ứng mô được lựa chọn của vật liệu sinh học có thể hấp thụ đối với các ứng dụng cấy ghép)
- [18] MHLW Notification, *Basic Principles of Biological Safety Evaluation Required for Application for Approval to Market Medical Devices*: YAKUSHOKUKI-HATSU 0301 No. 20 (2012.03.01)
- [19] Cohen J. Assay of Foreign-Body Reaction. *Journal of Bone and Joint Surgery*. 1959, **41A** pp. 152–166
- [20] De Jong W.H., Bergsma J.E., Robinson J.E., Bos R .R.M. Tissue response to partially in vitro predegraded poly-L-lactide implants. *Biomaterials*. 2005, **26** pp. 1781–1791
- [21] Wise D.L. et al., eds Wallin R.F., & Upman P.J. *Evaluating the Biological Effects of Medical Devices and Materials, Encyclopedic Handbook of Biomaterials and Bioengineering, Part A*. Marcel Dekker Inc, New York, Vol. 1, 1995, pp. 422–4.
- [22] Ferguson A.B., Laing P.G., Hodge E.S. The Ionization of Metal Implants in Living Tissues. *Journal of Bone and Joint Surgery*. 1960, **42A** pp. 77–90
- [23] Geret V., Rahn B.A., Mathys R., Straumann F., Perren S.M. In: *In vivo Testing of Tissue Tolerance of Implant Materials: Improved Quantitative Evaluation through Reduction of Relative Motion at the Implant Tissue Interface, from Current Concepts of Internal Fixation of Fracture*. (Uthoff H.K. ed.). Springer Verlag, 1980

- [24] Geret V., Rahn B.A., Mathys R., Straumann F., Perren S.M. Chapter 35: A Method for Testing Tissue Tolerance for Improved Quantitative Evaluation Through Reduction of Relative Motion at the Implant-Tissue Interface. *Evaluation of Biomaterials*. (Winter G.D., Leray J.L., de Groot K. eds.), John Wiley & Sons Ltd., 1980
- [25] Ikarashi Y., Toyoda K., Ohsawa N., Uchima T., Tsuchiya T., Kaniwa M. Comparative Studies by Cell Culture and in vivo Implantation Test on the Toxicity of Natural Rubber Latex Materials. *J. Biomed. Mater. Res.* 1992, **26** pp. 339–356
- [26] Ikarashi Y., Tsuchiya T., Toyoda K., Kobayashi E., Doi H., Yoneyama T. Tissue Reactions and Sensitivity to Iron Chromium Alloys. *Mater. Trans.* 2002, **43** pp. 3065–3071
- [27] Kaminski E.J., Oglesby R.J., Wood N.K., Sandrik J. The Behaviour of Biological Materials at Different Sites of Implantation. *J. Biomed. Mater. Res.* 1968, **2** pp. 81–88
- [28] Laing P.G., Ferguson A.B., Hodge E.S. Tissue Reaction in Rabbit Muscle Exposed to Metallic Implants. *J. Biomed. Mater. Res.* 1967, **1** pp. 135–149
- [29] Langeland K., Guttuso J., Langeland L.L., Tobon G. Methods in the study of biological response to endodontic materials. Tissue response to N2 (root canal sealer). *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1969, **27** pp. 522–542
- [30] Preul M.C., Bichard W.D., Muench T., Spetzler R.F. Toward optimal tissue sealants for neurosurgery: use of a novel hydrogel in a canine durotomy repair model. *Neurosurgery*. 2003, **53** pp. 1189–1198
- [31] Rahn B.A., Geret V., Capaul C., Lardi M., Solothurnmann B. Morphometric Evaluation of Tissue Reaction to Implants Using Low Cost Digitizing Techniques, *Clinical Applications of Biomaterials*, (Lee A.J.C., Albrektsson T., Branemark P.I. eds.), John Wiley & Sons Ltd., 1982
- [32] Tilney N.L. Patterns of lymphatic drainage in the adult laboratory rat. *J. Anat.* 1971, **109** (3) pp. 369–383
- [33] Torneck C.D. Reaction of Rat Connective Tissue to Polyethylene Tube Implants: Part I. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1966, **21** pp. 379–387
- [34] Torneck C.D. Reaction of Rat Connective Tissue to Polyethylene Tube Implants: Part II. *Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.* 1967, **24** pp. 674–683
- [35] Turner E., Lawrence W.H., Autian J. Subacute Toxicity Testing of Biomaterials Using Histological Evaluation of Rabbit Muscle Tissue. *J. Biomed. Mater. Res.* 1973, **7** pp. 39–58
- [36] Upman P.J. Toxicity Testing (of medical devices), *Handbook of Biomaterials Evaluation*, A. Von Recum (ed.), 2nd ed., Taylor & Francis, 1998, pp. 285–286
- [37] Upman P.J., & Muench T. Comprehensive Histopathology Scoring System for Biomaterial Implants, Am. College of Toxicology meeting, Palm Springs, CA, Nov 7-10, 2004; Abstract published. *Int. J. Toxicol.* 2004, **23** p. 384



- [38] US FDA-CDRH. Guidance document for testing biodegradable polyme implant devices (DRAFT); available under: [www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm080265.htm](http://www.fda.gov/MedicalDevices/DeviceRegulationandGuidance/GuidanceDocuments/ucm080265.htm)
- [39] U.S. Pharmacopeia, Biological reactivity tests, in-vivo
- [40] Pizzoferrato A., Savarino L., Stea S., Tarabusi C. Result of Histological Grading on 100 cases of Hip Prosthesis Failure. *Biomaterials*. 1988, 9 pp. 314–318
- [41] Yamada T., Nakaoka R., Sawada R., Matsuoka A., Tsuchiya T. Effects of Intracerebral Microinjection of Hydroxylated –[60]Fullerence on Brain Monoamine Concentrations and Locomotor Behaviour in Rats. *J. Nanotechnol.* 2009, 9 pp. 1–8
- [42] Fanning N.F., Willinsky R.A., ter Brugge K.G. Wall Enhancement, Edema, and Hydrocephalus After Endovascular Coil Occlusion of Intracerebral Aneurysms. *J. Neurosurg.* 2008, 108 (6) pp. 1074–1086
- [43] Wiesenfeld-Hallin Z. Sex differences in pain perception. *Gend. Med.* 2005, 2 (3) pp. 137–145
- [44] Exploring the Biological Contribution to Human Health. In: *Does Sex Matter* Wize mann T.M., & Pardue M.L. eds.). Institute of Medicine, National Academy Press, 2001
- [45] Carmichael N.M., Charlton M.P., Dostrovsky J. O. Sex Differences in Inflammation Evoked by Noxious Chemical, Heat and Electrical Stimulation. *Brain Res.* 2009, 1276 pp. 103–111
- [46] Bolon B. "Current Pathology Techniques" Symposium Review: Advances and Issues in Neuropathology. *Toxicol. Pathol.* 2008, 36 pp. 871–889
- [47] ISO 11979-5, *Ophthalmic implants — Intraocular lenses — Part 5: Biocompatibility*
- [48] Polikov V.S., Tresco P.A., Reichert W.M. Response of Brain Tissue to Chronically Implanted Neural Electrodes. *J. Neurosci. Methods.* 2005, 148 pp. 1–18
- [49] Tikka T., Fiebich B.L., Goldsteins G., Keinanen R., Koistinaho J. Minocycline, a Tetracycline Derivative, is Neuroprotective Against Excitotoxicity by Inhibiting Activation and Proliferation of Microglia. *J. Neurosci.* 2001, 15 pp. 2580–2588
- [50] Jordan W.H., Young J.K., Hyten M.J., Hall D.G. Preparation and analysis of the central nervous system. *Toxicol. Pathol.* 2011, 39 pp. 58–65
- [51] Therin M., Christel P., Meunier A. Analysis of the general features of the soft tissue response to some metals and ceramics using quantitative histomorphometry. *J. Biomed. Mater. Res.* 1994, 28 (11) pp. 1267–1276
- [52] TCVN 7391-11 (ISO 10993-11), *Đánh giá sinh học trang thiết bị y tế — Phần 11: Phép thử độc tính toàn thân*