

ГИГИЕНИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА БЕЗОПАСНОСТИ ИЗДЕЛИЙ МЕДИЦИНСКОГО НАЗНАЧЕНИЯ
ДЛЯ ИНЪЕКЦИОННОЙ КОНТУРНОЙ КОРРЕКЦИИ

Анисович М.В., Петрова С.Ю., Ильюкова И.И.

Республиканское унитарное предприятие «Научно-практический центр гигиены», Минск, Республика Беларусь

Реферат. В данной работе анализируются токсикологические методы исследования в соответствии с действующими техническими нормативными правовыми актами в Республике Беларусь и международными требованиями. На основе выбранных критериев гигиенической безопасности исследуются изделия медицинского назначения из новых материалов, в частности медицинских изделий для инъекционной контурной коррекции (филеров).

Ключевые слова: филеры, гиалуроновая кислота, гиалуронат натрия, гидрогель, цитотоксичность, пирогенность, острая токсичность.

Введение. Прогресс в области разработки и применения изделий медицинского назначения, а также внедрение новых материалов в практическое здравоохранение требует пересмотра и внедрения новых методов оценки их гигиенической безопасности. Особенно остро этот вопрос касается имплантируемых изделий и изделий объемной контурной пластики, изделий, содержащих наноматериалы. В последнем случае возникает много вопросов к применяемым методам определения безопасности изделий, они часто изготовлены из новых или модифицированных материалов и длительный срок контактируют с внутренней средой организма. В практику широко внедряются изделия, содержащие лекарственные средства, изделия, предназначенные для подкожного введения, внутрь суставов, изделия для диагностики *in vitro*.

Кроме того, в методы исследований, применяемые в международной практике, внесены многие изменения, ужесточены требования к условиям проведения экспериментов. В настоящее время странами-участницами Евразийского экономического союза (ЕАЭС) подписано Соглашение о единых принципах и правилах обращения медицинских изделий, положения которого направлены на гармонизацию законодательств в сфере обращения медицинских изделий, установление общих требований безопасности, качества и эффективности медицинских изделий, единых правил их регистрации и организации мониторинга безопасности, качества и эффективности медицинских изделий. Соглашение предусматривает формирование с 1 января 2016 г. общих для государств-членов ЕАЭС рынков лекарственных средств и медицинских изделий, что позволит существенно упростить доступ на рынок ЕАЭС медицинских изделий, повысить их качество и конкурентоспособность.

Осуществление мониторинга безопасности, качества и эффективности медицинских изделий по единым правилам позволит своевременно выявлять и принимать соответствующие меры в ЕАЭС в отношении фальсифицированных, контрафактных и недоброкачественных медицинских изделий и их поставщиков. В результате принятия единых правил регистрации снизятся временные издержки производителей медицинских изделий, что сделает медицинские изделия более доступными для населения.

Цель работы — анализ токсикологических методов исследования в соответствии с действующими техническими нормативными правовыми актами в Республике Беларусь и международными требованиями; экспертиза изделий медицинского назначения из новых материалов, в частности медицинских изделий для инъекционной контурной коррекции (филеров), на основе выбранных критериев гигиенической безопасности.

Материалы и методы. В работе проведены санитарно-гигиенические исследования высокоэластичных гидрогелей (филеров) на основе гиалуроновой кислоты (образец 1, Anteis SA, Швейцария), гиалуроновой кислоты с лидокаином (образцы 2, 3, Anteis SA, Швейцария), а также на основе гиалуроната натрия с содержанием гидроксиапатита (образец 4, EUMATERIALS s.r.l, Италия).

Определение гемолитического действия проводилось в опытах *in vitro* с оценкой реакции суспензии эритроцитов на добавление изотонического раствора, приготовленного из нативного образца путем добавления в него хлористого натрия в количестве 9 мг на 1 см³ раствора.

Исследование *in vitro* цитотоксического действия вытяжек из образцов в изотонический раствор выполнены на первичной культуре эмбриональных фибробластов мыши. Культивирование производилось в питательной среде, содержащей 90% DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium), 10% FBS (Fetal Bovine Serum), 0,1% AAS (Antibiothic-antimycotic solution). В качестве положительного контроля использовали 1%-й этанол. Плотность посева в эксперименте — 5000 клеток на 1 см². В каждой экспериментальной группе подсчет производился в трех лунках. Условия культивирования: 37°C, 5% CO₂.

Токсикологические эксперименты проведены на половозрелых белых крысах и кроликах.

Изучение пирогенности стерильных вытяжек из типовых образцов проводили в опытах на кроликах, не альбиносах (3 особи), которым вводили в ушную вену стерильную вытяжку температурой +37°C в количестве 10 мл/кг массы тела кроликов. Условия моделирования — температура +37±2°C, экспозиция 72±2 ч. Приготовление вытяжки: модельная среда — 0,9% раствор хлорида натрия, соотношение — полное заполнение.

Изучение острой токсичности типовых образцов в нативном виде в опытах на белых мышках массой 18–20 г, которым однократно внутрибрюшинно вводили исследуемые образцы в количестве 10,0 мл/кг массы тела.

Оценка общего состояния животных (поведение, подвижность, поедание корма, состояние шерстяного покрова) проводилась сразу после введения, затем через 1; 2; 4 и 24 ч, затем 2 раза в день в течение 14 сут наблюдения.

Изучение сенсibiliзирующей активности изучали на волонтерах, которым на внутреннюю поверхность локтевого сгиба фиксировали на 24 ч фрагменты испытуемых образцов, закрытых марлевыми салфетками с полиэтиленовой пленкой. Реакцию учитывали через 1; 24 и 48 ч.

Обработка данных производилась методами вариационной статистики. Критическим уровнем значимости при проверке статистических гипотез был принят $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение. Выбор и оценка любого материала или медицинского изделия, предназначенного для применения в медицинской практике, требует системного подхода к оценке биологического действия. Разработку изделия осуществляют на основе информированного и документально засвидетельствованного решения с учетом преимуществ и недостатков различных пригодных материалов и методов исследования. Для обеспечения гарантии того, что изделие в готовом виде будет функционировать в соответствии с назначением и его применение будет безопасно для человека, в плане разработки изделия предусматривают оценку его биологического действия [1].

При исследованиях и интерпретации результатов оценки биологического действия учитывают химический состав материалов, включая условия, а также вид, степень, частоту и продолжительность контакта изделия или его частей с организмом человека. Следуя вышесказанному, медицинские изделия для выбора соответствующих исследований подразделяют на категории. Согласно классификации медизделий филеры относятся к имплантируемым изделиям категории С — изделия постоянного контакта — одно-, многократного или непрерывного использования, контакт которых превышает 30 сут [1]. Любые исследования *in vitro* или *in vivo* проводят, основываясь на применении конечного продукта и выполнении лабораторных требований, при последующей интерпретации результатов исследований компетентными специалистами. При возможности исследования *in vitro* проводят до начала исследований *in vivo*.

Таким образом, согласно национальным [2–5] и международным [1, 5, 6] технико-нормативным правовым актам была проведена батарея токсикологических тестов, включавшая в себя на 1-м этапе — определение гемолитического, цитотоксического действия *in vitro*, на 2-м этапе — изучение острой внутрибрюшинной токсичности, пирогенного, сенсibiliзирующего действия образцов *in vivo*.

При изучении гемолитического действия образцов в опытах *in vitro* установлено, что гемолитическое действие составляет для образца № 1 — 0,56%, № 2 — 0,73%, № 3 — 0,34%, № 4 — 0,74%, что позволяет сделать вывод о том, что филеры не оказывают гемолитического действия, т. к. допустимый уровень гемолиза — не более 2%.

Результаты исследования цитотоксического действия вытяжек из образцов на первичной культуре эмбриональных фибробластов *in vitro* представлены в таблице 1.

Визуальная оценка фибробластов в эксперименте показала, что клетки, культивируемые на стекле, и клетки, культивируемые в присутствии вытяжек из образцов, морфотипически и количественно не различаются. В присутствии этанола (положительный контроль) наблюдается подавление количественного роста фибробластов. Таким образом, исследованные образцы не обладают цитотоксическим действием (0 — по шкале цитотоксичности).

Таблица 1. — Воздействие образца на среднее число клеток в ростовой среде

Срок экспозиции, сут	Среднее число клеток/30 мм ² в разные сроки, сут					
	образец № 1 (вытяжка)	образец № 2 (вытяжка)	образец № 3 (вытяжка)	образец № 4 (вытяжка)	озотонический раствор (контроль)	отанол 1% (положительный контроль)
0	928,8±39	934,9±33	987,7±42	885,3±97	938±51,9	946±6,3
2	1511,4±19	1498,8±68	1512,1±33	1463,8±67	1523±33,3	1220*±27,1
5	2890,4±77	2714,8±87	2745,4±54	2897,7±99	2851±36,8	1041*±48,4
8	3910,7±43	3815,4±97	3956,1±87	3948,1±78	3867±56,5	461*±37,8

При изучении пирогенного действия образцов показано, что сумма повышений температуры у кроликов по сравнению с исходной температурой после инъекции исследуемых образцов изделий медицинского назначения для инъекционной контурной коррекции не превышает гигиенический норматив, который составляет не более 1,4°C. Результаты приведены в таблице 2.

При изучении острой токсичности через 4 и 24 ч после внутрибрюшинного введения белым мышам образцов изделий медицинского назначения для инъекционной контурной коррекции в нативном виде клинических симптомов интоксикации и гибели животных не отмечалось. На протяжении всего периода наблюдений поведение подопытных животных не отличалось от контроля.

По окончании эксперимента по оценке сенсibiliзирующего действия, изученного на волонтерах, которым на внутреннюю поверхность локтевого сгиба фиксировали марлевые салфетки, пропитанные исследуемы-

ми образцами изделий медицинского назначения для инъекционной контурной коррекции, установлено отсутствие видимых изменений кожи и субъективных симптомов раздражения кожи.

Таблица 2. — Результаты испытаний на пирогенность

Кролики масса, г	Показатели ректальной температуры					Сумма повышения температуры у трех кроликов, °С
	до введения		после введения			
	за 60 мин	за 30 мин	1 ч	2 ч	3 ч	
образец № 1						
3800	39,1	39,1	39,2	39,3	39,1	+0,5
4550	39,0	39,0	38,9	38,9	39,0	
3700	39,0	39,0	39,2	39,2	39,0	
образец № 2						
3850	39,5	39,5	39,6	39,8	39,6	+0,7
4600	39,4	39,4	39,5	39,6	39,5	
3800	39,2	39,2	39,3	39,4	39,3	
образец № 3						
3700	39,1	39,1	39,2	39,2	39,1	+0,4
4650	39,0	39,0	38,9	38,9	39,0	
3800	39,0	39,0	39,2	39,2	39,0	
образец № 4						
3780	39,2	39,1	39,1	39,3	39,1	+0,5
3960	39,0	39,1	38,9	38,8	39,0	
3980	39,0	39,1	39,1	39,2	39,0	

Заключение. В соответствии с действующими техническими нормативными правовыми актами в Республике Беларусь и международными требованиями были выбраны критерии гигиенической безопасности для оценки имплантируемых медицинских изделий, на основании чего выполнена батарея тестов *in vitro* (1-й этап исследований) и *in vivo* (2-й этап исследований). Оценка безопасности филеров показала, что исследуемые образцы не оказывают цитотоксического, гемолитического действия в экспериментах *in vitro*, не обладают пирогенным, сенсибилизирующим действием, не токсичны при внутрибрюшинном введении.

На основании исследований можно сделать вывод, что представленные образцы изделий для инъекционной контурной коррекции (филеры) соответствуют требованиям безопасности данного вида медицинских изделий.

Литература

1. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 1: Оценка и исследование: ГОСТ Р ИСО 10993-1-2009 / Biological evaluation of medical devices. Part.1: Evaluation and testing (IDT): ISO 10993-1:2003. — Введ. 06.08.2009 (взамен ГОСТ Р ИСО 10993.1-99). — М.: Стандартинформ, 2009. — 19 с.
2. СНИП. Требования к изделиям медицинского назначения и медицинской технике: утв. постановлением МЗ РБ, 16 дек. 2013 г., № 128 // Охрана труда. Здоровоохранение. — 2014. — № 1. — С. 8–19.
2. Гигиенический норматив «Показатели безопасности изделий медицинского назначения, медицинской техники и материалов, применяемых для их изготовления»: утв. постановлением МЗ РБ, 16 дек. 2013 г., № 128.
3. Инструкция 1.1.10-12-41-2006 «Гигиеническая оценка изделий медицинского назначения, медицинской техники и материалов, применяемых для их изготовления»: утв. постановлением Гл. гос. сан. врача Респ. Беларусь 22 нояб. 2006, № 154. — Минск, 2006. — 27 с.
4. Государственная фармакопея Республики Беларусь, Т. 1: Общие методы контроля качества лекарственных средств, гл. 8: Пирогенность (определение исходной и максимальной температуры). — Минск, 2006.
5. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 11: Исследования общетоксического действия: ГОСТ Р ИСО 10993-11-2009 / ISO 10993-11:2006 Biological evaluation of medical devices. Part 11: Tests for systemic toxicity (IDT). — Введ. 20.10.2009 (взамен ГОСТ Р ИСО 10993.1-99). — М.: Стандартинформ, 2010. — 27 с.
6. Изделия медицинские. Оценка биологического действия медицинских изделий. Ч. 5: Исследования на цитотоксичность: методы *in vitro*: ГОСТ Р ИСО 10993-1-2009 / Biological evaluation of medical devices. Part.1: Testa for *in vitro* cytotoxicity (IDT): ISO 10993-1:2003. — Введ. 02.12.2009 (взамен ГОСТ Р ИСО 10993.1-99). — М.: Стандартинформ, 2010. — 16 с.

HYGIENIC ASSESSMENT OF THE SAFETY OF MEDICAL PRODUCTS FOR INJECTION CONTOUR CORRECTION

Anisovich M.V., Petrova S.U., Ilyukova I.I.

Republican Unitary Enterprise “The Scientific & Practical Center of Hygiene”, Minsk, Republic of Belarus

In this paper, an analysis of the toxicological research methods in accordance with the technical normative legal acts of the Republic of Belarus and international standards and, based on the selected hygienic safety criteria, conducted a study of medical devices made of new materials, such as medical devices for the injection contour correction (spies).

Keywords: fillers, hyaluronic acid, sodium hyaluronate, a hydrogel, cytotoxicity, pyrogenicity, acute toxicity.

Поступила 23.05.2016