VIRA GROUP
آزمایشگاه زیست سازگاری و تست تجهیزات پزشکی
شماره ثبت : ۶۰۵۰۴۴

گزارش آزمون اندوتوکسین باکتریایی

NZV/Rep14030722-30112325003-003

نام درخواست کننده آزمون: آرکا پژوهان آریانا (GENEX)

آدرس: تبریز، خیابان پاستور، مابین لاله زار و شریعتی، جنب کلانتری ۱۵، مرکز رشد تجهیزات پزشکی علوم پزشکی تبریز

محل انجام آزمون: آزمایشگاه نیکان زیست ویرا (شناسه ملی: ۱۴۰۱۱۶۷۳۵۹۶)

آدرس: تهران، خیابان آزادی، دانشگاه شریف، ساختمان هوافضای جدید، طبقه هفتم.

نوع آزمون درخواست شده: آزمون آزمون اندوتوکسین باکتریایی

روش انجام آزمون و استاندارد مرجع جهت انطباق: ISO 10993-11:2017 & INSO 10572:1399

زمان بندی:

پذیرش نمونه: ۱۴۰۳/۰۷/۲۲	شروع آزمون: ۱۴۰۳/۰۷/۲۲
پایان آزمون: ۱۴۰۳/۰۷/۲۷	ارائه گزارش: ۱۴۰۳/۰۸/۰۶

نام شرکت تولید کننده: آرکا پژوهان آریانا(GENEX)	مدت زمان استفاده: –
نام نمونه: فلاسک کشت سلول (T25)	کاربرد: جهت کشت سلول
لات نامبر/رف نامبر : ۳۰۱۱۲۳۲۵۰۰۳	محل استفاده: –
روش سترون سازی: پرتو دهی	تعداد نمونه دریافت شده: ۳ عدد برای آزمون
تاریخ تولید: ۲۰۲۳/۱۱/۳۰	تاریخ انقضا: ۲۰۲۶/۱۱/۳۰

نتیجه آزمون: نمونه ی مورد آزمون تولید شرکت آرکا پژوهان آریانا با الزامات استاندارد مطابقت دارد.

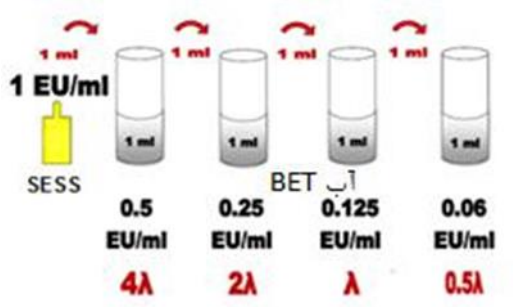
آزمون اندوتوکسین باکتریایی

اساس این آزمون، تشکیل ژل ناشی از واکنش اندوتوکسین باکتریایی با لایزت آمیبوسیت‌های لیمولوس (LAL) است. لایزت LAL در صورت قرار گرفتن در معرض مقادیر مناسب اندوتوکسین باکتریایی، لخته می‌شود. در این استاندارد، وجود یا عدم وجود اندوتوکسین باکتریایی با تشکیل ژل یا عدم تشکیل ژل بررسی می‌شود.

تجهیزات مورد استفاده	مواد مصرفی
فور	سرسمپلر
انکوباتور	میکروتیوب
لوله‌های شیشه‌ای	آب
سمپلر یا پیپت	پارافیلم
زمان سنج	لایزت معرفLAL
ورتکس	محلول ذخیره اندوتوکسین استاندارد

مراحل و روش انجام آزمون

در وهله نخست در زمان شروع آزمون، حساسیت (λ) برچسب زده شده روی هر بچ از معرف LAL که با واحد IU/ml یا EU/ml بیان می‌شود، تأیید شد. برای این منظور، از محلول ذخیره اندوتوکسین استاندارد (SESS)، ۳ غلظت (۲λ، ۱λ و ۰/۵λ) تهیه گردید.



تهیه غلظت‌های محلول اندوتوکسین با استفاده از آب

جهت آماده سازی غلظت‌های استاندارد اندوتوکسین، محلول اندوتوکسین ذخیره استاندارد را طبق توصیه سازنده در آب حل شده و در صورت لزوم به مدت لازم ورتکس گردید. اندوتوکسین کنترل با استفاده از آب فاقد اندوتوکسین رقیق شد تا به غلظت ۱ EU رسید. سپس با استفاده از آب به‌طور سریالی رقیق شدند تا به غلظت‌های استاندارد معادل ۲ λ، ۱ λ و ۰/۵ λ رسیدند.

تأیید حساسیت لایزت معرف LAL

هر سه غلظت تهیه شده طبق دستور سازنده به سه ویال حاوی معرف LAL اضافه شدند، به یک ویال حاوی معرف LAL نیز آب اضافه شد. ویالها به مدت زمان ۶۰ min ± ۲ min در دمای ۳۷ °C ±۱ °C گرمخانه‌گذاری شدند. پس از مدت زمان گرمخانه‌گذاری، تشکیل ژل را بررسی گردید. لازم به ذکر است که در ویالهای ۲ λ و ۱ λ باید ژل تشکیل شده در ویالهای مساوی یا کمتر از ۰/۵ λ نباید ژل تشکیل می‌شد. در این‌صورت، حساسیت اعلام شده روی کیت (λ) تأیید می‌گردد. برای آماده سازی نمونه‌ها دقت کافی صورت گرفت، تا از آلودگی میکروبیولوژیک و اندوتوکسینی نمونه‌ها جلوگیری شود. محلول استخراج باید از قبل به دمای ۳۷°C ± ۱C ° رسیده باشد، ولی نمونه مورد آزمون به مدت حداقل یک ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. حجم آب برای استخراج باید متناسب با حجم و سطح نمونه و حساسیت ویال باشد. برای محاسبه حداکثر میزان آب برای استخراج، می‌توان از فرمول زیر استفاده کرد:

$$V = \frac{K \times N}{\lambda}$$

K: مقدار اندوتوکسین مجاز برای هر وسیله پزشکی و N (EU/ device) :تعداد وسیله پزشکی مورد آزمون

V: حجم کلی محلول استخراج ((ml؛ λ حساسیت معرف LAL (EU/ml)؛ است.

آماده‌سازی نمونه و کنترل‌ها:

A. آماده سازی نمونه:

وسیله مورد آزمون را در آب با حجم مناسب که از قبل به دمای ۳۷°C ± ۱ °C رسیده است، به مدت حداقل ۱ h در دمای اتاق غوطه‌ور می شود. بهتر است استخراج همراه بـا هـم‌زدن یـا بـه گردش درآوردن انجام شود.

دقت گردد که برای آزمون یک وسیله، باید همه مایع‌های استخراجی حاصل از همه قطعات و همه نمونه‌های مورد آزمون را با هم مخلوط کنیم. Ph مایع استخراجی باید بین ۶ تا ۸ باشد. در صورت لزوم، pH تنظیم می شود.

B. آماده سازی کنترل منفی:

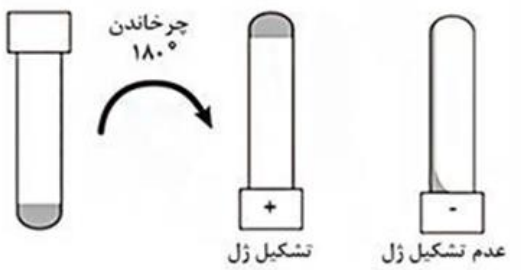
در کنترل منفی، به‌محفظه مایع حاصل از استخراج نمونه، به یک ویال معرف LAL آب اضافه شد و به مدت ۶۰ min ±۲ min در دمای ۳۷ °C ±۱ °C گرمخانه‌گذاری گردید. لازم به ذکر بوده که در کنترل منفی، ژل نباید تشکیل شود. در غیراینصورت، آزمون معتبر نبوده و برای تهیه مایع استخراجی باید از آب جدید استفاده شود.

C. آماده سازی کنترل مثبت:

در کنترل مثبت، وجود عوامل مداخله‌گر آزمون بررسـی می‌شـود. در کنترل مثبت باید ژل تشـکیل شـود در غیر اینصـورت آزمون معتبر نبوده و باید مواد مداخله گر از مایع آزمون یا مایع استخراجی حذف شوند.

بررسی تشکیل ژل

حجم لازم (برای مثال ۲۵۰ µl) از مایع حاصل از استخراج به ویال معرف LAL اضافه شد و به مدت ۲ min ± ۶۰min در دمای ۳۷°C ± ۱°C گرمخانه‌گذاری گردید. پس از مدت زمان گرمخانه‌گذاری، ویال از نظر تشکیل ژل بررسی شد. برای این منظور ویال را با زاویه ۱۸۰° چرخانیده و یکپارچه بودن ژل بررسی شد. (مطابق با شکل). لازم به ذکر است که در صورتی تشکیل ژل مثبت در نظر گرفته می‌شود، که پس از برگرداندن ویال با زاویه ۱۸۰°، محتوای ویال نریزد. واکنش تشکیل ژل یک واکنش آنی و لحظه‌ای است. به‌همین دلیل، بلافاصله پس از گرمخانه‌گذاری به مدت ۲ min ± ۶۰min ویال را از نظر تشکیل ژل بررسی شد. تشکیل ژل نشان دهنده مثبت بودن وجود اندوتوکسین با حساسیت اندوتوکسین درج شده بر روی برچسب می باشد.



محدوده رد یا پذیرش نتیجه آزمون

نتیجه آزمون در صورتی معتبر است که در ویال کنترل منفی، ژل تشکیل نشود. و در ویال کنترل مثبت (بررسی وجود عوامل مداخله‌گر)، ژل تشکیل شود. همچنین نتیجه آزمون باید بر حسب ویژگی وسیله در استاندارد یا مقررات مربوطه به‌صورت زیر گزارش شود:

- **در صورت تشکیل ژل:**
  بیشتر از مقدار مجاز اندوتوکسین تعیین شده برای وسیله مورد آزمون
  یا وجود اندوتوکسین با حساسیت ذکر شده روی برچسب کیت (λ)
- **در صورت عدم تشکیل ژل:**
  کمتر از مقدار مجاز اندوتوکسین تعیین شده برای وسیله مورد آزمون
  یا عدم وجود اندوتوکسین با حساسیت ذکر شده روی برچسب کیت (λ)

نتایج آزمون

با توجه به عدم تشکیل ژل در ویال نمونه مورد آزمون، نمونه فاقد اندوتوکسین باکتریایی می‌باشد و الزامات این استاندارد را دارا می‌باشد.

تصویر نمونه مورد آزمون

مراجع و منابع

ANSI/AAMI ST72: 2011/ (R) 2016, Bacterial Endotoxins-Test methods, routine monitoring, and alternatives to batch testing.
ISO 10993-11:2017 "Biological evaluation of medical devices- Part 10: Tests for systemic toxicity".
INSO 10572:1399

VIRA
Nikan Zist Ltd.
|Reg No : 605044|