INSO
7216-4
1st.Revision
2015

جمهوری اسلامی ایران
Islamic Republic of Iran

سازمان ملی استاندارد ایران

Iranian National Standardization Organization

استاندارد ملی ایران
۷۲۱۶-۴
تجدید نظر اول
۱۳۹۴

ارزیابی زیست شناختی وسایل پزشکی- قسمت چهارم: گزینش آزمون‌های بررسی برهم‌کنش با خون

Biological evaluation of medical devices- Part 4: Selection of tests for interactions assessment with blood

ICS: 11.100.20

به نام خدا

آشنایی با سازمان ملی استاندارد ایران

مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱ تنها مرجع رسمی‌کشور است که وظیفه تعیین، تدوین و نشر استانداردهای ملی (رسمی) ایران را به عهده دارد.

نام موسسه استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران به موجب یکصد و پنجاه و دومین جلسه شورای عالی اداری مورخ ۹۰/۶/۲۹ به سازمان ملی استاندارد ایران تغییر و طی نامه شماره ۲۰۶/۳۵۸۳۸ مورخ ۹۰/۷/۲۴ جهت اجرا ابلاغ شده است.

تدوین استاندارد در حوزه های مختلف در کمیسیون های فنی مرکب از کارشناسان سازمان، صاحب نظران مراکز و مؤسسات علمی، پژوهشی، تولیدی و اقتصادی آگاه و مرتبط انجام می‌شود وکوششی همگام با مصالح ملی و با توجه به شرایط تولیدی، فناوری و تجاری است که از مشارکت آگاهانه و منصفانهٔ صاحبان حق و نفع، شامل تولیدکنندگان، مصرف‌کنندگان، صادرکنندگان و وارد کنندگان، مراکز علمی و تخصصی، نهادها، سازمان‌های دولتی و غیر دولتی حاصل می‌شود. پیش نویس استانداردهای ملی ایران برای نظرخواهی به مراجع ذی‌نفع و اعضای کمیسیون های فنی مربوط ارسال می‌شود و پس از دریافت نظرها و پیشنهادها در کمیتهٔ ملی مرتبط با آن رشته طرح و در صورت تصویب به عنوان استاندارد ملی (رسمی) ایران چاپ و منتشر می‌شود.

پیش نویس استانداردهایی که مؤسسات و سازمان های علاقه‌مند و ذی‌صلاح نیز با رعایت ضوابط تعیین شده تهیه می‌کنند درکمیتهٔ ملی طرح و بررسی و درصورت تصویب، به عنوان استاندارد ملی ایران چاپ و منتشر می‌شود. بدین ترتیب، استانداردهایی ملی تلقی می‌شوند که بر اساس مفاد نوشته شده در استاندارد ملی ایران شمارهٔ ۵ تدوین و در کمیتهٔ ملی استاندارد مربوط که سازمان ملی استاندارد ایران تشکیل می‌دهد به تصویب رسیده باشد.

سازمان ملی استاندارد ایران از اعضای اصلی سازمان بین المللی استاندارد (ISO)[1]، کمیسیون بین المللی الکتروتکنیک (IEC)[2] و سازمان بین المللی اندازه شناسی قانونی (OIML)[3] است و به عنوان تنها رابط[4] کمیسیون کدکس غذایی(CAC)[5] در کشور فعالیت می‌کند. در تدوین استانداردهای ملی ایران ضمن توجه به شرایط کلی و نیازمندی‌های خاص کشور، از آخرین پیشرفت‌های علمی، فنی و صنعتی جهان و استانداردهای بین‌المللی بهره‌گیری می‌شود.

سازمان ملی استاندارد ایران می‌تواند با رعایت موازین پیش بینی شده در قانون، برای حمایت از مصرف کنندگان، حفظ سلامت و ایمنی فردی و عمومی، حصول اطمینان از کیفیت محصولات و ملاحظات زیست محیطی و اقتصادی، اجرای بعضی از استانداردهای ملی ایران را برای محصولات تولیدی داخل کشور و/یا اقلام وارداتی، با تصویب شورای عالی استاندارد، اجباری نماید. سازمان می‌تواند به منظور حفظ بازارهای بین المللی برای محصولات کشور، اجرای استاندارد کالاهای صادراتی و درجه‌بندی آن را اجباری نماید. همچنین برای اطمینان بخشیدن به استفاده کنندگان از خدمات سازمان‌ها و مؤسسات فعال در زمینهٔ مشاوره، آموزش، بازرسی، ممیزی و صدورگواهی سیستم‌های مدیریت کیفیت و مدیریت زیست‌محیطی، آزمایشگاه‌ها و مراکز کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، سازمان ملی استاندارد ایران این گونه سازمان‌ها و مؤسسات را بر اساس ضوابط نظام تأیید صلاحیت ایران ارزیابی می‌کند و در صورت احراز شرایط لازم، گواهینامهٔ تأیید صلاحیت به آن‌ها اعطا و بر عملکرد آن‌ها نظارت می‌کند. ترویج وسیله بین المللی یکاها، کالیبراسیون (واسنجی) وسایل سنجش، تعیین عیار فلزات گرانبها و انجام تحقیقات کاربردی برای ارتقای سطح استانداردهای ملی ایران از دیگر وظایف این سازمان است.

1- International Organization for Standardization
2- International Electrotechnical Commission
3- International Organization of Legal Metrology (Organisation Internationale de Metrologie Legale)
4- Contact point
5- Codex Alimentarius Commission

کمیسیون فنی تدوین استاندارد

« ارزیابی زیست شناختی وسایل پزشکی-
قسمت چهارم: گزینش آزمون‌های بررسی برهم‌کنش با خون »

رئیس:	**سمت و/ یا نمایندگی**
مختاری، فهیم‌دخت (فوق لیسانس ایمونولوژی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد
دبیر:	
عطار، فرنوش (دکترای تخصصی بیوشیمی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد
اعضاء: (اسامی به ترتیب حروف الفبا)	
افتخاری، محسن فوق لیسانس میکروبیولوژی	شرکت سها
امینی‌فر، مهرناز (دکترای تخصصی علوم و صنایع غذایی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد
بیات، مریم (فوق لیسانس شیمی تجزیه)	شرکت سوپا
حلاج نیشابوری، شیما (دکترای تخصصی بیوشیمی)	وزارت بهداشت و درمان و آموزش پزشکی- سازمان غذا و دارو- مرکز آزمایشگاه‌های مرجع کنترل غذا و دارو
حیدرپور، مژگان (فوق لیسانس میکروبیولوژی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد
حیدرزاده، مرجان (فوق لیسانس میکروبیولوژی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد

خدیوی، سوسن (کارشناس مهندسی کشاورزی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد
رزق دوست، غلامحسین (فوق لیسانس مدیریت و زیست شناسی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد
رشیدنجفی، فریده (لیسانس زیست شناسی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد
زایرزاده، احسان (دکترای تخصصی سم‌شناسی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد
سلطانی، رضا (لیسانس علوم آزمایشگاهی دامپزشکی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد
شکری، تیمور (فوق لیسانس بیوشیمی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد
عطایی کچویی، سعید (دکترای تخصصی ایمونولوژی)	موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی
فرجی، رحیم (فوق لیسانس شیمی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد
گودرزی، جمشید (فوق لیسانس علوم آزمایشگاهی)	سازمان ملی استاندارد ایران- پژوهشگاه استاندارد

فهرست مندرجات

عنوان	صفحه
آشنایی با سازمان ملی استاندارد	ب
کمیسیون فنی تدوین استاندارد	ج
پیش گفتار	و
مقدمه	ز
۱ هدف و دامنه کاربرد	۱
۲ مراجع الزامی	۱
۳ اصطلاحات و تعاریف	۲
۴ علائم اختصاری	۳
۵ انواع وسایل در تماس با خون	۵
۵-۱ وسایل غیر تماسی	۵
۵-۲ وسایل ارتباطی خارجی	۵
۵-۳ وسایل کاشتنی	۶
۶ تعیین مشخصات برهم‌کنش‌های خون	۷
۶-۱ الزامات عمومی	۷
۶-۲ گروه‌های آزمون‌ها و برهم‌کنش‌های خون	۱۵
۶-۳ انواع آزمون‌ها	۱۶
پیوست الف (اطلاعاتی)- ارزیابی بالینی وسایل قلبی - عروقی و پروتزها	۱۹
پیوست ب (اطلاعاتی)- آزمون‌های آزمایشگاهی- اصول، مبنای علمی و تفسیر	۲۵
پیوست پ (اطلاعاتی)- ارزیابی شاخص‌های همولیتیک وسایل پزشکی و اجزای آنها	۳۴
پیوست ت (اطلاعاتی)- کتاب‌نامه	۴۴

پیش گفتار

استاندارد "ارزیابی زیست شناختی وسایل پزشکی-قسمت چهارم: گزینش آزمون‌های بررسی برهم‌کنش با خون" که پیش نویس آن درکمیسیون‌های مربوط تهیه و تدوین شده و در پانصد و بیست و سومین اجلاس کمیتهٔ ملی استاندارد مهندسی پزشکی مورخ ۱۳۹۴/۰۹/۱۶ مورد تصویب قرار گرفته است، اینک به استناد بند یک مادهٔ ۳ قانون اصلاح قوانین و مقررات مؤسسهٔ استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران، مصوب بهمن ماه ۱۳۷۱، به عنوان استاندارد ملی ایران منتشر می‌شود.

برای حفظ همگامی و هماهنگی با تحولات و پیشرفت‌های ملی و جهانی در زمینهٔ صنایع، علوم و خدمات، استانداردهای ملی ایران در مواقع لزوم تجدید نظر خواهد شد و هر پیشنهادی که برای اصلاح و تکمیل این استانداردها ارائه شود، هنگام تجدید نظر در کمیسیون فنی مربوط مورد توجه قرار خواهد گرفت. بنابراین، باید همواره از آخرین تجدیدنظر استانداردهای ملی استفاده کرد.

این استاندارد جایگزین استاندارد ۴-۷۲۱۶ است.

منبع و مأخذی که برای تهیهٔ این استاندارد مورد استفاده قرار گرفته به شرح زیر است:

1- ISO 10993-4: 2002+Amd.1:2006, Biological evaluation of medical devices- Part 4: Selection of tests for interactions with blood

مقدمه

آزمون‌های مناسب برای بررسی برهم‌کنش وسایل پزشکی با خون باید از نظر طراحی وسیله، مواد، کاربرد بالینی، استفاده محیط زیست و احتمال خطر انتخاب و طراحی شوند. این سطح از ویژگی فقط می‌تواند در سری استانداردهای ارزیابی بیولوژیکی پوشش داده شود.

این استاندارد از مجموعه استانداردهای ملی ایران شماره ۷۲۱۶ است.

ارزیابی زیست شناختی وسایل پزشکی-
قسمت چهارم: گزینش آزمون‌های بررسی برهم‌کنش با خون

۱ هدف و دامنه کاربرد

هدف از تدوین این استاندارد ارائه الزامات عمومی برای ارزیابی برهم‌کنش‌های وسایل پزشکی با خون است. این استاندارد موارد زیر را شرح می‌دهد:

الف) طبقه بندی وسایل پزشکی و دندان‌پزشکی در تماس با خون با در نظر گرفتن کاربرد مورد نظر و مدت تماس با خون که در استاندارد بین المللی ایزو ۱-۱۰۹۹۳ آورده شده؛

ب) اصول اساسی حاکم بر ارزیابی برهم‌کنش وسایل پزشکی با خون؛

ج) توجیه منطقی انتخاب آزمون‌ها مطابق با گروه‌های خاص، همراه با اصول و اساس علمی گزینش آزمون‌ها.

این استاندارد بدلیل محدودیت در دانش و دقت آزمون‌های وسایل پزشکی با خون، الزامات جزئی آزمون را شرح نمی‌دهد. بعلاوه این بخش از استاندارد، مسائل کلی ارزیابی زیستی را شرح می‌دهد و ممکن است الزاماً برای راهنمایی روش‌های آزمون یک وسیله خاص کافی نباشد. آزمون‌های مناسب برای بررسی برهم‌کنش وسایل پزشکی با خون باید از نظر طراحی وسیله، مواد، کاربرد بالینی، استفاده محیط زیست و احتمال خطر انتخاب و طراحی شوند. این سطح از ویژگی فقط می‌تواند در سری استانداردهای ارزیابی بیولوژیکی (استانداردهای عمودی[1]) پوشش داده شود.

۲ مراجع الزامی

مدارک الزامی زیر حاوی مقرراتی است که در متن این استاندارد ملی ایران به آنها ارجاع داده شده است. بدین ترتیب آن مقررات جزئی از این استاندارد ملی ایران محسوب می‌شود. در صورتی که به مدارکی با ذکر تاریخ انتشار ارجاع داده شده باشد، اصلاحیه‌ها و تجدیدنظرهای بعدی آن مورد نظر این استاندارد ملی ایران نیست. در مورد مدارکی که بدون ذکر تاریخ انتشار به آن‌ها ارجاع داده شده است، همواره آخرین تجدیدنظر و اصلاحیه‌های بعدی آنها مورد نظر است.

استفاده از مراجع زیر برای این استاندارد الزامی است:

۲-۱ استاندارد ملی ایران شماره ۲-۷۲۱۶، ارزیابی زیست شناختی وسایل پزشکی- قسمت دوم: الزامات بهزیستی حیوانات

۲-۲ استاندارد ملی ایران شماره ۱۲-۷۲۱۶، ارزیابی بیولوژیکی وسایل پزشکی- قسمت ۱۲: آماده‌سازی نمونه و مواد مرجع

1- Vertical standards

2-3 ISO 10993-1:1992, Biological evaluation of medical devices -- Part 1: Guidance on selection of tests [1]

۳ اصطلاحات و تعاریف

در این استاندارد اصطلاحات و تعاریف زیر به‌کار می‌رود:

۱-۳

برهم‌کنش بین خون و وسیله (برهم‌کنش خون/ وسیله) **(Blood/device interaction)**

هرگونه برهم‌کنش بین خون و یا هر یک از اجزای خون با یک وسیله که بتواند بر روی خون، اندام، بافت و یا خود وسیله تاثیر بگذارد.

یادآوری- این اثرات می‌توانند عواقب بالینی مشهود یا عوارض ناخواسته به دنبال داشته و یا فاقد اینگونه نتایج باشند. پیوست الف اطلاعات بیشتر در مورد این برهم‌کنش‌ها را شرح می‌دهد.

۲-۳

انعقاد **(Coagulation)**

پدیده‌ای که بدنبال فعال شدن آبشار فاکتورهای انعقادی اتفاق می‌افتد.

یادآوری- فاکتورهای انعقادی و عوامل تجزیه‌کننده فیبرین (فیبرینولیز[۲]) پس از مواجهه با وسایل پزشکی (در شرایط برون‌تنی[۳] و یا در شرایط درون‌تنی[۴]) می‌توانند اندازه‌گیری شوند.

۳-۳

سیستم کمپلمان **(Complement system)**

بخشی از سیستم ایمنی ذاتی است که از پروتئین‌های مختلف پلاسما شامل آنزیم‌ها و گیرنده‌های سلولی تشکیل شده است.

یادآوری- مولکول‌های فعال تولید شده از سیستم کمپلمان در فرایندهای التهاب، فاگوسیتوز و لیز سلول دخالت دارند.

۴-۳

آمبولیزاسیون **(Embolization)**

فرایندی که در طی آن یک لخته خون یا شیء خارجی در جریان خون وارد شده و ممکن است منجر به انسداد جریان خون در ادامه مسیر شود.

۱- استاندارد ملی ایران شماره ۴۳۰۰، بر اساس منبع ISO 10993-1:1992 تدوین شده است.

2- Fibrinolytic systems
3- *In vitro*
4- *In vivo*

۳-۵

سیستم آزمون اِکس ویوو **(*Ex vivo* test system)**

سیستم آزمونی است که جریان خون را مستقیماً از انسان یا حیوان آزمایشگاهی مورد آزمون به محفظه آزمایشی خارج بدن هدایت می‌کند.

یادآوری- اگر از حیوان استفاده می‌شود، خون ممکن است به طور مستقیم به حیوان (چرخشی) بازگشت داده و یا در لوله های آزمایش برای ارزیابی (تک پاس) جمع آوری شود. در هر صورت، محفظه آزمون خارج از بدن قرار دارد.

۳-۶

خون شناسی **(Haematology)**

علم مطالعه خون که به تعیین مقدار اجزای سلولی و پلاسمای خون می‌پردازد.

۳-۷

پلاکت‌ها **(Platelets)**

اجسام سلولی فاقد هسته که در گردش خون بوده و با اتصال به سطوح و چسبیدن به یکدیگر منجر به تشکیل پلاگ هموستانیک[1] شده و از ادامه خونریزی جلوگیری می‌کنند.

یادآوری- آزمون پلاکت شامل تعیین تعداد پلاکت‌ها، بررسی ساختار و عملکرد آنها می‌باشد. علاوه بر این، این آزمون شامل بررسی فاکتورهای پلاکت، یا اجزای روی سطح پلاکت که از پلاکت‌ها آزاد شده یا به سطح وسیله می‌چسبند، می‌باشد.

۳-۸

فرایند تشکیل لخته (ترومبــوزیس) **(Thrombosis)**

فرایندی که در شرایط آزمون درون‌تنی یا برون‌تنی و یا حیوانات آزمایشگاهی در جریان کامل خون رخ داده و منجر به فعال شدن سیستم انعقاد و پلاکت‌ها و نهایتاً به تشکیل لخته می‌انجامد.

۳-۹

لخته (ترومبوز) **(Thrombus)**

مخلوطی منعقد شده از گلبول‌های قرمز، پلاکت‌های بهم چسبیده، فیبرین و دیگر عناصر سلولی است.

۳-۱۰

ترومبوآمبولیزاسیون **(Thromboembolization)**

حرکت و جابجایی لخته در جریان خون که ممکن است سبب انسداد سایر عروق‌ها شود.

۴ علائم اختصاری

فهرست علائم اختصاری بکار رفته در این استاندارد در جدول ۱ ذکر شده است.

1- Haemostatic plug

جدول ۱- فهرست علائم اختصاری

نماد	توصیف
Bb	فرآورده مسیر فرعی فعال‌سازی کمپلمان
β-TG	ترومبوگلوبولین بتا
C4d	فرآورده مسیر کلاسیک فعال‌سازی کمپلمان
C3a, C5a	فرآورده‌های فعال تجزیه کمپلمان از C3 و C5
CD62L	ال-سلکتین
CH-50	۵۰٪ همولیز کمپلمان کل
CT	توموگرافی کامپیوتری (سی تی اسکن)
D-Dimer	فرآورده‌های تجزیه فیبرین اختـــصاصی (فاکتور F XIII متصل به فیبرین)
ECMO	اکسیژن‌ساز غشایی خارج تنه‌ای
ELISA	سنجش ایمونوسوربنت متصل به آنزیم (الایزا)
EM	میکروسکپ الکترونی
FDP	فرآورده‌های حاصل از تجزیه فیبرین و فیبرینوژن
FPA	فیبرینوپپتید A
F_{1+2}	قطعه ۱+۲ حاصل از فعال‌سازی پروترومبین
ic3b	فرآورده حاصل از فعال سازی کمپلمان C مرکزی
IVC	ورید اجوف تحتانی
MRI	تصویربرداری رزونانس مغناطیسی
PAC-1	آنتی‌بادی مونوکلونال که فرم فعال گلیکوپروتئین IIb/IIIa سطحی پلاکت را تشخیص می‌دهد
PET	توموگرافی نشر پوزیترون
PF-4	فاکتور پلاکت ۴
PRP	پلاسمای غنی از پلاکت
PT	زمان پروترومبین
PTT	زمان نسبی ترومبوپلاستین
P-selectin	رسپتور در معرض قرار گرفته در حین واکنش آزاد شدن سلولی اندوتلیال یا پلاکت
RIA	رادیوایمونواسی
S-12	آنتی‌بادی منوکلونال، بخش گرانول-آلفا سلکتین P غشایی را که در حین واکنش آزادسازی پلاکت در مـــعرض قرار می گیرد، تشخیص می‌دهد
SC5b-9	فرآورده مسیر نهایی فعالسازی کمپلمان
TAT	کمپلکس ترومبین- آنتی ترومبین
TCC	کمپلکس کمپلمان نهایی
TT	زمان ترومبین
VWF	فاکتور فون ویلبراند

۵ انواع وسایل در تماس با خون (مطابق با طبقه‌بندی استاندارد بین المللی ایزو ۱-۱۰۹۹۳)

۵-۱ وسایل غیرتماسی[1]

وسایل تشخیص در شرایط برون‌تنی مثالی از یک وسیله غیر تماسی است.

۵-۲ وسایل رابط خارجی[2]

این گروه شامل وسایلی می‌شوند که با جریان خون در تماس بوده و به عنوان مجرائی جهت دستیابی به سیستم عروقی عمل می‌کنند. مثال‌های وسایل رابط خارجی محدود به استاندارد بین المللی ایزو ۱-۱۰۹۹۳ نمی‌شوند و می‌توانند شامل موارد ذکر شده در دو گروه زیر باشند.

الف) وسایل رابط خارجی که به عنوان یک مسیر خونی غیرمستقیم عمل می‌کنند. این‌ها شامل موارد زیر بوده اما محدود به این وسایل نمی‌شوند:

- کانولا[3]
- ست‌های ازدیاد طول[4]
- وسایل خون‌گیری[5]
- وسایلی جهت نگهداری و بکارگیری خون و فرآورده‌های خونی (بطور مثال لوله‌ها، سوزن‌ها و کیسه‌ها)
- محافظ‌های سلولی[6]

ب) وسایل رابط خارجی که در تماس با جریان خون هستند. اینها شامل موارد زیر بوده اما محدود به این‌ها نمی‌شوند:

- وسیله‌های آترکتومی[7]
- مانیتورهای خون[8]
- سوندها یا کاتترها[9]
- سیم‌های راهنما[10]
- اِندوسکوپ‌های داخل عروقی[11]
- اولتراسوند داخل عروقی[12]

1- Non-contact devices
2- External communicating devices
3- Cannulae
4- Extension sets
5- Blood collection devices
6- Cell savers
7- Atherectomy devices
8- Blood monitors
9- Catheters
10- Guidewires
11- Intravascular endoscopes
12- Intravascular ultrasound

- سیستم‌های لیزری داخل عروقی[1]
- کاتترهای پرفیوژن کرونر رتروگراد[2]
- بای‌پس‌های گردشی قلبی ریوی[3]
- اکسیژن ساز غشائی خارج تنه‌ای[4]
- تجهیزات همودیالیز و هموفیلتراسیون[5]
- تجهیزات آفرزیس درمانی جهت دهنده خون[6]
- وسیله‌های جاذب مواد خاص از خون[7]
- وسیله‌های مداخله‌کننده قلبی عروقی[8]
- سیستم‌های حمایتی جریان خون زیر جلدی[9]

۵-۳ وسایل کاشتنی (ایمپلنت)

این گروه شامل وسایلی هستند که بطور گسترده و کامل با سیستم عروقی در تماس می‌باشند. اینها شامل موارد زیر بوده اما محدود به این وسایل نمی‌شوند:

- حلقه‌های آنولوپلاستی[10]
- دریچه‌های مکانیکی یا بافتی قلب[11]
- پیوندهای عروقی بافتی یا پروتزی[12]
- وسایل حمایت کننده گردش خون (وسایل کمکی بطن قلب، قـــلب‌های مصنوعی، پمپ‌های بالون داخل آئورت)[13]
- فیلترهای سیاهرگ اجوف تحتانی[14]
- وسیله‌های آمبولیزاسیون[15]
- پیوندهای اندوواسکولار[16]

1- Intravascular laser systems
2- Retrograde coronary perfusion catheters
3- Cardiopulmonary bypass circuitry
4- Extracorporeal membrane oxygenators
5- Haemodialysis/haemofiltration equipment
6- Donor and therapeutic apheresis equipment
7- Devices for absorption of specific substances from blood
8- Interventional cardiology and vascular devices
9- Percutaneous circulatory support systems
10- Annuloplasty rings
11- Mechanical or tissue heart valves
12- Prosthetic or tissue vascular grafts
13- Circulatory support devices (ventricular-assist devices, artificial hearts, intra-aortic balloon pumps)
14- Inferior vena cava filters
15- Embolization devices
16- Endovascular grafts

- کاردیوورترها و دفیبریلاتورهای قابل کاشت[1]
- استنت‌ها[2]
- شنت‌های شریانی وریدی[3]
- مانیتورهای خون
- کاتترهای توزیع دارو به داخل بدن[4]
- وسایل ضربان ساز[5]
- اکسیژن‌سازهای غشایی داخل عروقی (ریه‌های مصنوعی)[6]
- فیلترهای حذف لکوسیت[7]

۶ تعیین مشخصات برهم‌کنش‌های خون

۶-۱ الزامات عمومی

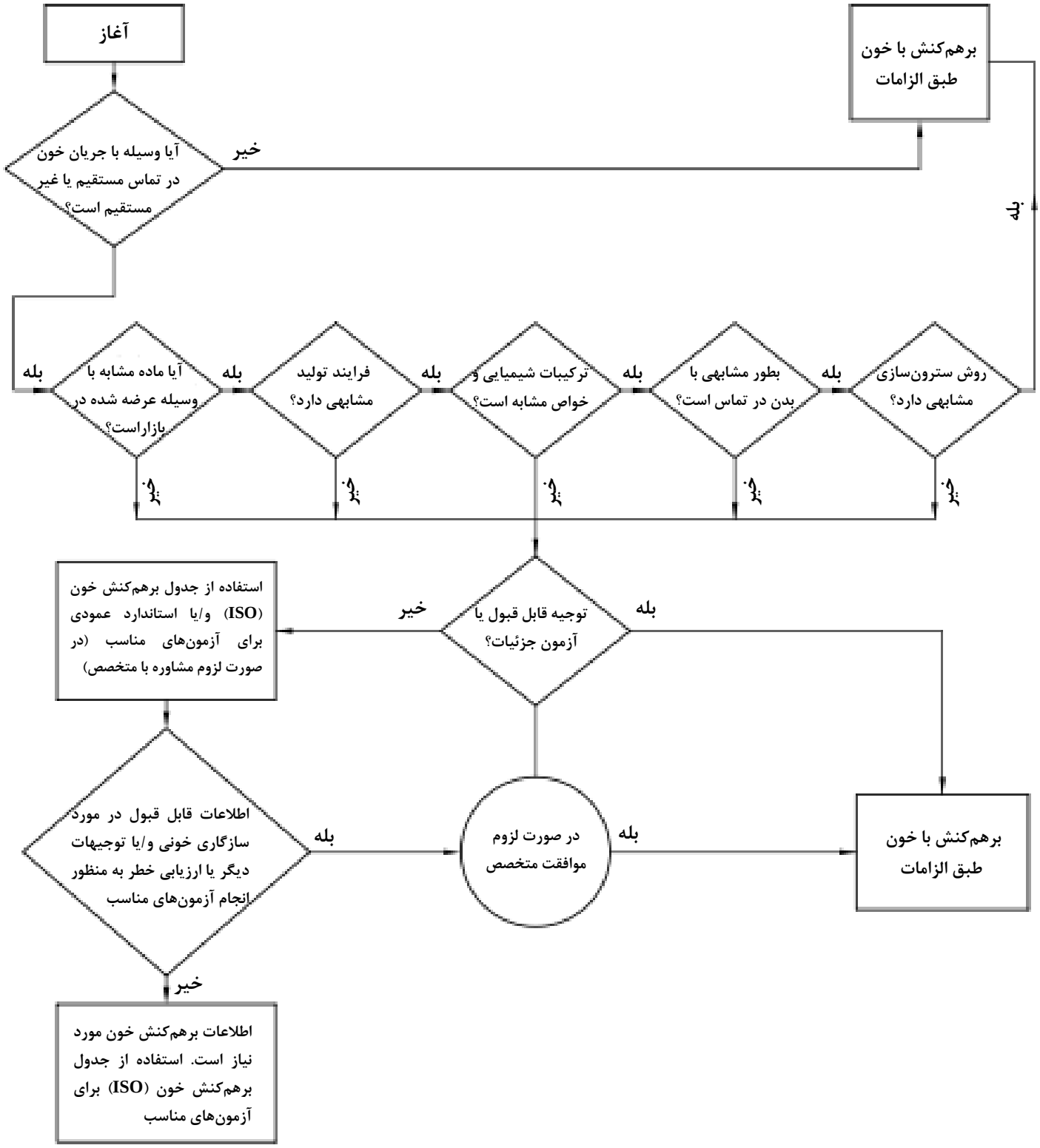
۶-۱-۱ شکل ۱ یک فلوچارت تصمیم‌گیری را نشان می‌دهد که می‌تواند برای تعیین اینکه آیا آزمون برای برهم‌کنش وسیله با خون ضروری یا غیر ضروری است، مورد استفاده قرار گیرد.

برهم‌کنش‌های خون می‌تواند بر اساس فرایند اولیه یا سیستم اندازه‌گیری به پنج گروه طبقه‌بندی شود. در جداول ۲ و ۳ مثال‌هایی از وسایلی که با گردش خون در تماس هستند و گروه‌های آزمون مناسب آنها آورده شده است.

یادآوری- از آنجا که این استاندارد یک استاندارد بین المللی افقی است، دلایل منطقی می‌توانند برای توجیه انتخاب گروه آزمون بر اساس وسیله مشخص توسعه داده شوند. آزمون ترومبوزیس اغلب به عنوان یک روش ارجح برای مشخصه‌سازی وسیله‌ها است. در بسیاری از موارد، دلایل منطقی می‌توانند برای جایگزین کردن ترکیبی از آزمون‌های انعقاد، پلاکت، هماتولوژی و سیستم کمپلمان را به جای آزمون ترومبوزیس مورد استفاده قرار گیرند.

برای وسایل پزشکی که یک استاندارد ملی ویژه (استاندارد عمودی) وجود دارد، الزامات ارزیابی زیستی و روش‌های آزمون مندرج در استاندارد عمودی باید مقدم بر الزامات عمومی پیشنهاد شده در این بخش استاندارد باشد.

1- Iimplantable defibrillators and cardioverters
2- Stents
3- Arteriovenous shunts
4- internal drug delivery catheters
5- Pacemaker leads
6- Intravascular membrane oxygenators (artificial lungs)
7- Leukocyte-removal filters



شکل ۱- فلوچارت تصمیم‌گیری برای تعیین ضروری بودن انجام آزمون برهم‌کنش وسیله با خون

جدول ۲- وسایل تماسی یا قطعاتی از این وسایل که در تماس با خون در گردش بوده و گروه‌بندی آزمون‌های مناسب آنها- وسایل رابط خارجی

مثال‌های وسایل	گروه‌بندی آزمون				
	ترومبوزیس	انعقاد	پلاکت	خون شناسی	سیستم کمپلمان
کاتترهایی با تماس کمتر از ۲۴ ساعت در موضع (مانند تجهیزات آترکتومی، سیم‌های راهنما)	[a]×			[b]×	
نمایشگرهای خون	[a]×			[b]×	
وسایل نگهداری خون، وسایل خون‌گیری، ست‌های ازدیاد طول		×	×	[b]×	[c]×
کاتترهایی با تماس بیش از ۲۴ ساعت در موضع (مانند اِندوسکوپ‌های داخل عروقی، اولتراسوند داخل عروقی، سیستم‌های لیزر، کاتترهای پرفیوژن کرونر رتروگراد)	[a]×			[b]×	×
محافظ‌های سلولی		×	×	[b]×	
وسیله‌های جاذب مواد خاص از خون		×	×	×	×
تجهیزات آفرزیس درمانی جهت دهنده خون و سیستم‌های تفکیک کننده سلولی		×	×	×	×
سیستم اکسیژن‌ساز غشایی خارج تنه‌ای تجهیزات همودیالیز و هموفیلتراسیون وسایل حمایت کننده گردش خون زیرجلدی	[a]×			×	×
فیلترهای حذف لکوسیت		×	×	[b]×	×

[a] مطابق با بند ۳-۸، فرایند تشکیل لخته (ترومبوزیس) یک پدیده درون‌تنی یا اِکس‌ویوو است. مشخص شده که انعقاد و پاسخ‌های پلاکتی در این فرایند دخالت می‌کنند. بنابراین این تولیدکننده وسیله است که آزمون خاص مناسب با وسیله تولیدی خود را از گروه‌های آزمون انعقاد و پلاکت انتخاب می‌کند.

[b] فقط آزمون همولیز.

[c] فقط برای تجیزات آفرزیس و روش‌های مرتبط.

جدول ۳- وسایل تماسی یا قطعاتی از این وسایل که در تماس با خون در گردش بوده و گروه‌بندی آزمون‌های مناسب آنها- وسایل کاشتنی

مثال‌های وسایل	گروه‌بندی آزمون				
	ترومبوزیس	انعقاد	پلاکت	خون شناسی	سیستم کمپلمان
حلقه‌های آنولوپلاستی، دریچه‌های مکانیکی قلب	×[a]			×[b]	
پمپ‌های بالون داخل آئورت[1]	×[a]			×	
قلب مصنوعی کامل، وسیله کمکی بطن[2]	×[a]			×	×
وسیله‌های آمبولیزاسیون	×[a]			×[ذ]	
پیوندهای داخل عروقی	×[a]			×[b]	×
کاردیوورترها و دفیبریلاتورهای قابل کاشت	×[a]			×[b]	
وسیله‌های ضربان ساز	×[a]			×[b]	
پیوندهای پروتز (مصنوعی) عروقی و تکه‌ای، شامل شنت‌های شریانی[3] شریانی[3]	×[a]			×[b]	×
استنت‌ها	×[a]			×[b]	
دریچه‌های بافت قلب	×[a]			×[b]	
پیوند عروقی بافت و تکه‌ای[4]، شامل شنت‌های شریانی	×[a]			×[b]	
فیلترهای سیاهرگ اجوف	×[a]			×[b]	

[a] همانطور که در بند ۳-۸ اشاره شده، ترومبوز یک پدیده درون‌تنی یا اِکس‌ویوو است. مشخص شده که انعقاد و پاسخ‌های پلاکتی در این فرایند دخالت می‌کنند. بنابراین این تولیدکننده وسیله است که آزمون خاص مناسب با وسیله تولیدی خود را از گروه‌های آزمون انعقاد و پلاکت انتخاب می‌کند.
[b] فقط آزمون همولیز.

۶-۱-۲ در صورت امکان، آزمون‌ها باید از یک سیستم یا مدل مناسبی که مشابه هندسه و شرایط تماس وسیله با خون در طول مدت کاربردهای کلینیکی است، استفاده کنند. این شرایط شامل مدت تماس، درجه حرارت، شرایط استریل و دیگر شرایط موجود در جریان خون است. برای وسایلی با ابعاد هندسی مشخص نیز نسبت پارامتر آزمون (غلظت در واحد حجم) به سطح در معرض (سانتی‌متر مربع) باید ارزیابی شود.
تنها قسمت‌هایی از وسیله که در تماس با خون هستند باید مورد آزمون قرار گیرند. روش‌های آزمون انتخاب شده نیز باید با شرایط جاری فنی سازگار باشند.

1- Intra-aortic balloon pumps
2- Ventricular-assist devices
3- Prosthetic (synthetic) vascular grafts and patches, including arteriovenous shunts
4- Tissue vascular grafts and patches

۶-۱-۳ نمونه‌های کنترل باید مورد استفاده قرار گیرند و درصورتیکه حذف آنها توجیه منطقی داشته باشد، می‌توان از آنها استفاده نکرد. در صورت امکان، آزمون باید شامل وسیله‌ای که در آزمایشگاه‌های کلینیکی بکار می‌رود یا مواد مرجع کاملاً شناخته شده باشد.

مواد مرجع بکار برده شده باید کنترل‌های مثبت و منفی داشته باشند. تمام مواد و وسایل مورد آزمون باید تمام مراحل کنترل کیفی و مشخصات تضمین کیفیت تولیدکننده‌ها و آزمون‌های آزمایشگاهی را طی کرده باشند. همچنین همه مواد و وسایل مورد آزمون باید از لحاظ منبع، تولید کننده، درجه‌بندی و نوع شناخته شده باشند.

۶-۱-۴ قسمت‌هایی از وسیله که برای آزمون انتخاب می‌شوند ممکن است مسیر آزمون‌های غربالگری را طی نمایند. با این وجود، چنین آزمون‌های اولیه نمی‌توانند جانشین آزمون‌های کل وسیله شوند یا یک قطعه‌ای از وسیله نمی‌تواند به عنوان الزامات کل وسیله در هنگام کاربرد آزمایشگاهی در نظر گرفته شود.

۶-۱-۵ آزمونی که توانایی شبیه‌سازی شرایط یک وسیله را در هنگام کاربرد نداشته باشد، نمی‌تواند با دقت ماهیت برهم‌کنش‌های بین وسیله و خون را که در حین کاربردهای بالینی رخ می‌دهند، پیش‌بینی کند. برای مثال: برخی آزمون‌های کوتاه مدت در شرایط برون‌تنی، پیش بینی ضعیفی نسبت به برهم‌کنش‌های طولانی مدت خون و وسیله در شرایط درون‌تنی دارند.

۶-۱-۶ در ادامه مطالب، وسایلی که در شرایط اِکس‌ویوو کاربرد دارند (وسایل رابط خارجی؛ مطابق بند ۵-۲) باید در شرایط مشابه با اِکس‌ویوو آزمایش شوند و وسایلی که درون موجود زنده بکار برده می‌شوند (وسایل کاشتنی؛ مطابق بند ۵-۳) نیز باید مشابه با شرایط درون‌تنی با بکارگیری یک حیوان مدل و حتی الامکان تحت شرایط بسیار نزدیک به کاربرد کلینیکی آن وسیله آزمون شوند.

۶-۱-۷ توصیه‌های بندهای ۶-۱-۵ و ۶-۱-۶ به‌همراه وسایلی که فهرست آنها در بند ۵ ذکر گردید، شکل ۱ و جدول ۳ می‌توانند به عنوان راهنمای انتخاب روش‌های آزمون بند ۶-۲-۱ بکار برده شوند. راهنمای ارزیابی‌های پیش بالینی[1] نیز در پیوست الف آورده شده است. روش‌های زیر باید انجام شوند:

الف) تعیین اینکه کدامیک از پنج گروه آزمون برای ارزیابی برهم‌کنش خون با وسیله مناسب است؛

ب) ارزیابی اطلاعات موجود در واکنش‌های بین این گروه‌ها؛

ج) انتخاب آزمون‌های مناسب از جدول ۴ یا ۵.

۶-۱-۸ وسایل آزمایشگاهی یک بار مصرف که جهت خون‌گیری و انجام آزمون‌های آزمایشگاهی برون‌تنی بکار می‌روند باید ارزیابی شوند تا عدم تداخل معنی‌دار آنها با آزمون مشخص شود.

۶-۱-۹ اگر آزمون‌ها براساس روش شرح داده شده انتخاب و تحت شرایط مشابه کاربرد کلینیکی انجام شوند، نتایج حاصل از چنین آزمون‌هایی بیشترین احتمال پیش‌بینی عملکرد بالینی وسایل را خواهند داشت. اگرچه، تفاوت در گونه‌ها و عوامل دیگر ممکن است پیش‌بینی هر آزمون را محدود نمایند.

1- Pre-clinical

۶-۱-۱۰ به دلیل واکنش‌های خونی متفاوت بین گونه‌ها بهتر است از خون انسان استفاده شود. زمانیکه استفاده از حیوانات به عنوان مدل ضرورت دارد برای مثال، جهت ارزیابی وسایل مورد استفاده برای مجاورت طولانی مدت یا مکرر و یا تماس دائم، تفاوت واکنش خونی بین گونه‌ها باید در نظر گرفته شود.

در انسان و پریمات‌های غیر انسانی، مقادیر فاکتورهای خونی و واکنش‌پذیری بسیار شبیه است. استفاده از حیوانات دیگر مانند خرگوش، خوک، گوساله، گوسفند، یا سگ نیز ممکن است نتایج رضایت‌بخشی حاصل نمایند. از آنجا که اختلاف‌های گونه‌ای ممکن است قابل توجه باشد (برای مثال چسبندگی پلاکت، ترومبوزیس و همولیز در گونه های سگ نسبت به انسان بیشتر رخ می‌دهند) همه نتایج حاصل از مطالعات حیوانی باید با احتیاط تفسیر شوند. انتخاب گونه استفاده شده و تعداد آن نیز باید قابل توجیه باشد (به استاندارد ملی ایران شماره ۲-۷۲۱۶ مراجعه شود).

یادآوری- در برخی کشورها محدودیت‌هایی در استفاده از پریمات‌های غیر انسانی برای انجام آزمون‌های سازگاری خونی درون‌تنی و آزمون‌های وسایل پزشکی وجود دارد و انجام آزمون باید مطابق با قوانین مراجع ذیصلاح صورت گیرد.

۶-۱-۱۱ از ضدانعقادها[1] در آزمون‌های درون‌تنی و شرایط اِکس‌ویوو نباید استفاده شود مگر اینکه وسیله طراحی شده در حضور این مواد عملکرد لازم را داشته باشد. نوع و غلظت ضدانعقاد مورد استفاده برای میانکش‌های بین خون و وسیله تاثیر داشته و انتخاب آنها باید قابل توجیه باشد. در ارزیابی وسایلی که از ضدانعقادها استفاده می‌کنند، غلظت ضدانعقادها باید در محدوده کاربرد کلینیکی باشد.

۶-۱-۱۲ هر گونه تغییر در یک وسیله کلینیکی تائید شده باید در ارزیابی برهم‌کنش‌های بین خون/ وسیله و عملکرد کلینیکی وسیله در نظر گرفته شود. مثال‌های این تغییرات می‌تواند شامل تغییرات در طرح، فیزیک، سطح یا ترکیب شیمیائی مواد و تغییرات در بافت، خلل و فرج یا سایر خصوصیات وسیله باشد.

۶-۱-۱۳ به منظور ارزیابی آماری اطلاعات، تکرار آزمون‌ها و تعداد نمونه‌های کنترل باید به میزان کافی باشند. تغییرات در برخی از روش‌های آزمون مستلزم آن است که این آزمون‌ها چندین مرتبه تکرار شوند تا تفاوت‌های معنی‌دار را مشخص نمایند. همچنین، تکرار مطالعات در یک بازه زمانی فراتر از تماس خون/ وسیله، اطلاعات جامعی را درباره وابسته بودن این برهم‌کنش‌ها به زمان می‌دهد.

1- Anticoagulants

جدول ۴- روش‌های آزمون وسایل رابط خارجی

گروه آزمون	روش ارزیابی	تفسیر
ترومبوزیس	درصد انسداد	
	کاهش جریان	
	تجزیه و تحلیل وزنی (اندازه ترومبوز)	
	میکروســکوپ نوری (پلاکت‌های چسبیده، لکوسیت‌ها، توده‌ها، اریتروسیت‌ها، فیبرین، غیره)	
	افت فشار اطراف وسیله	
	آنتی‌بادی‌های نشاندارشده با اجزای ترومبوز	
	میکروســکوپ الکترونی اسکــنینگ (چسبندگی پلاکت و تشکیل توده)؛ مورفولوژی پلاکت و لکوسیت؛ فیبرین	
انعقــاد	PTT[1] (غیرفعال)	
	تولید ترومبین: سنجش‌های فاکتور اختصاصی انعقاد؛ FPA[2]، D-dimer[3]، F_{1+2}[4]، TAT[5]	
پلاکت‌ها	شمارش پلاکت/اتصال	نشاندار کردن با In برای استفاده طولانی یا مجدد (<۲۴ ساعت تا ۳۰ روز) و تماس دائمی (<۳۰ روز) توصیه می‌شود.
	توده پلاکت	
	زمان خونریزی قالب	
	تجزیه و تحلیل عملکرد پلاکت	
	PF-4[6]، β-TG[7]؛ ترومبوکسان B2	
	نشانگرهای فعال شدن پلاکت	
	اجزای ریز پلاکت	
	تصویربرداری گاما از پلاکت‌های نشاندار شده، زنده‌مانی پلاکت نشاندار با In^{111} ← ← ←	
خون‌شناسی	شمارش رتیکولوسیت‌ها با یا بدون تمایز	
	فعال شدن لکوسیت	
	همولیز	
	شمارش رتیکولوسیت؛ فعال شدن فرآورده‌های اختصاصی آزاد شده از سلول‌های خون محیطی (به عنوان مثال گرانولوسیت‌ها)	
سیستم کمپلمان	C3a و C5a[8]، TCC[9]، Bb[10]، ic3b[11]، C4d[12]، SC5b-9[13]، CH50[14]، C3 convertase، C5 convertase	

1- Partial thromboplastin time
2- Fibrinopeptide A
3- Specific fibrin degradation products (F XIII cross-linked fibrin)
4- Prothrombin activation fragment 1+2
5- Thrombin-antithrombin complex
6- Platelet factor 4
7- Beta-thromboglobulin
8- (Active) complement split products from C3 and C5
9- Terminal complement complex
10- Product of alternative pathway complement activation
11- Product of central C complement activation
12- Product of classical pathway complement activation
13- product of terminal pathway complement activation
14- 50% total haemolytic complement

جدول ۵- روش‌های آزمون وسایل کاشتنی

گروه آزمون	ارزیابی آزمون	تفسیر
ترومبوزیس	میکروسکپ الکترونی اسکنینگ (چسبندگی پلاکت و تشکیل توده)؛ مورفولوژی پلاکت و لکوسیت؛ فیبرین	
	درصد انسداد	
	کاهش جریان	
	آنتی بادی‌های نشاندارشده با اجزای ترومبوز	
	نمونه‌برداری از محل وسیله (بزرگ و میکروسکوپی)؛ هیستوپاتولوژی	
	نمونه‌برداری از اندام‌های دورتر از محل وسیله (بزرگ و میکروسکوپی)؛ هیستوپاتولوژی	
انعقـاد	آزمون فاکتور انعقادی اختصاصی؛ FPA، D-dimer، F_{1+2}، PAC-1[1]، S-12[2]، TAT	
	PTT (غیرفعال)، PT[3]، TT[4]؛ فیبرینوژن پلاسما؛ FDP[5]	
پلاکت‌ها	PF-4 , β-TG, Thromboxane B2	
	نشانگرهای فعال شدن پلاکت	
	اجزای ریز پلاکت	
	تصویربرداری گاما از پلاکت‌های نشاندار شده، زنده‌مانی پلاکت نشاندار با In^{111}	
	تجزیه و تحلیل عملکرد پلاکت	
	شمارش پلاکت/اتصال	
	توده پلاکت	
خون‌شناسی	شمارش رتیکولوسیت‌ها با یا بدون تمایز	
	فعال شدن لکوسیت	
	همولیز	
	شمارش رتیکولوسیت؛ فعال شدن فرآورده‌های اختصاصی آزاد شده از سلول‌های خون محیطی (به عنوان مثال گرانولوسیت‌ها)	
سیستم کمپلمان	C3a و C5a، TCC، Bb، ic3b، C4d، SC5b-9، CH50، C3 convertase،C5 convertase	

1- Monoclonal antibody which recognizes the activated form of platelet surface glycoprotein IIb/IIIa
2- Monoclonal antibody, which recognizes the alpha-granule membrane component P-selectin exposed during the platelet release reaction
3- Prothrombin time
4- Thrombin time
5- Fibrin/fibrinogen degradation products

۶-۲ گروه‌های آزمون‌ها و برهم‌کنش‌های خون

۶-۲-۱ آزمون‌های توصیه شده برای برهم‌کنش‌های بین وسایل با خون

آزمون‌های توصیه شده براساس نوع وسیله (مطابق با جداول ۴ و ۵) سازماندهی شده‌اند. آزمون‌ها براساس فرآیند اولیه یا سیستم اندازه‌گیری به پنج گروه زیر تقسیم‌بندی می‌شوند:

۱- ترومبوزیس (طبق بند ۳-۳)

۲- انعقاد (طبق بند ۳-۴)

۳- پلاکت‌ها (طبق بند ۳-۵)

۴- خون‌شناسی (طبق بند ۳-۶)

۵- سیستم کمپلمان (طبق بند ۳-۷)

اصول و اساس علمی این آزمون‌ها در پیوست ب آمده است.

۶-۲-۲ وسایل غیر تماسی

وسایل غیرتماسی نیاز به آزمون برهم‌کنش بین وسیله و خون را ندارند. صحه‌گذاری کیت‌های آزمایشگاهی یک بار مصرف باید انجام شود تا از تداخل مواد با دقت آزمون جلوگیری شود.

۶-۲-۳ وسایل رابط خارجی

پس از استفاده از جداول ۲ و ۳ که گروه برهم‌کنش خون مربوط به یک نوع وسیله خاص را تعیین می‌کنند، جدول ۴ می‌تواند به عنوان یک راهنما برای انتخاب آزمون‌های مناسب وسایل ارتباطی خارجی به عنوان تابعی از برهم‌کنش‌های خونی مناسب برای ارزیابی بکار رود (به بند ۶-۱-۶ نیز مراجعه شود). معیارهای انتخاب آزمون به وسیله خاص ارزیابی شده بستگی دارد.

۶-۲-۴ وسایل کاشتنی

پس از استفاده از جداول ۲ و ۳ که گروه آزمون مربوط به یک نوع وسیله خاص را در برهم‌کنش با خون تعیین می‌کنند، جدول ۵ می‌تواند به عنوان یک راهنما برای انتخاب آزمون‌های مناسب وسایل کاشتنی به عنوان تابعی از ارزیابی مناسب برهم‌کنش‌های خونی بکار رود (به بند ۶-۱-۶ نیز مراجعه شود). معیارهای انتخاب آزمون به وسیله خاص ارزیابی شده بستگی دارد.

۶-۲-۵ موارد استفاده و محدودیت‌ها

سنجش ایمنی[1] جهت آزمون خون انسان قابل دسترس اما معمولاً برای سایر گونه‌ها مفید نمی‌باشد. کیت‌های آزمایشگاهی مربوط به انسان معمولاً با سایر گونه‌ها بغیر از بعضی از پریمات‌های غیر انسانی واکنش متقاطع ایجاد نمی‌کنند. باید توجه داشت که سیستم آزمون به گونه‌ای طراحی شود که تضمین کند اندازه‌گیری یک

1- Immunoassays

فاکتور مربوط به مواد آزمون بوده و ناشی از اندازه‌گیری انحرافات سیستم نیست. شبیه‌سازی آزمون‌های برون‌تنی و اِکس‌ویوو با خون انسان اغلب مقادیر پلاسمایی از آنالیت‌ها را تولید می‌کنند که بسته به شرایط آزمایش، برای اندازه‌گیری در محدوده قابل قبول سنجش ایمنی نیاز به سطح پایین، متوسط یا بالایی از رقت دارند. باید توجه داشت فقط نتایجی را که در محدوده قابل قبول سنجش‌ها اندازه‌گیری شده‌اند، گزارش شوند. علاوه بر این، باید از اندازه‌گیری میزان رقیق سازی نمونه مورد آزمون نیز اطمینان حاصل شود.

اختلاف در ارزیابی برهم‌کنش خون/ وسیله ممکن است به دلیل عدم کافی بودن تعیین مشخصات مواد و یا کاربری‌های نادرست قبل از انجام آزمون‌های خون رخ دهد. برای مثال مطالعات ممکن است فقط بر اساس یک نوع آزمون انجام شوند و یا ممکن است اجازه دهند مواد خارجی بی‌ارتباط به مواد یا وسیله تحت آزمون بکـــار بـــرده شوند. موادی که در عروق محیطی با جریان آهسته (وریدها) بکار می‌روند ممکن است اثرات کاملاً متفاوتی بر روی خون نسبت به زمانیکه جریان تند (شریان‌ها) وجود دارد، داشته باشند. تغییرات در طراحی و یا شرایط جریان در عروق می‌تواند ظاهر سازگاری خونی[1] یک ماده را در شرایط درون‌تنی تغییر دهد.

۶-۳ انواع آزمون‌ها

۶-۳-۱ آزمون‌های برون‌تنی

متغیرهایی که باید در هنگام استفاده از روش‌های آزمون برون‌تنی در نظر گرفته شوند شامل: هماتوکریت، ضد انعقادها، جمع‌آوری نمونه، سن نمونه، نگهداری نمونه، تبادلات گازی داخل نمونه و pH، درجه حرارت، توالی آزمون‌ها در برابر مطالعات نمونه‌های کنترل، نسبت سطح به حجم و شرایط دینامیک مایعات (خصوصاً سرعت شکستن دیواره) می‌باشد. از آنجایی که برخی از خصوصیات خون بعد از جمع‌آوری سریعاً تغییر می‌کند آزمون‌ها باید با حداقل تأخیر، معمولاً در طی چهار ساعت، انجام شوند.

۶-۳-۲ آزمون‌های اِکس‌ویوو

آزمون‌های اِکس‌ویوو زمانی که استفاده مورد نظر وسیله در شرایط اِکس‌ویوو باشد باید انجام گردند، برای مثال وسایل رابط خارجی. این آزمون‌ها می‌توانند در مورد وسایلی که در شرایط درون‌تنی بکار برده می‌شوند نیز مفید باشند، برای مثال انجام یک پیوند عروقی در داخل بدن (به عنوان یک وسیله کاشتنی). البته این شیوه نمی‌تواند کاملاً جایگزین آزمون وسیله کاشتنی شود.

سیستم‌های آزمون اِکس‌ویوو برای کنترل چسبندگی پلاکت‌ها، ایجاد آمبولی، رسوب فیبرینوژن، توده ترومبوز، چسبندگی گلبول‌های سفید، مصرف و فعال شدن پلاکت‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند. سرعت جریان خون را می‌توان بوسیله وسیله داپلر یا پروب‌های الکترومغناطیسی[2] اندازه‌گیری نمود. تغییرات در سرعت جریان خون می‌تواند نشانگر وسعت و شدت رسوب ترومبوز و آمبولیزاسیون باشد.

1- Haemocompatibility
2- Doppler or electromagnetic flow probes

بسیاری از سیستم‌های آزمون اِکس‌ویوو برای کنترل برهم‌کنش‌های خون/ وسیله از ترکیبات خون نشاندار شده با مواد رادیوایزوتوپ استفاده می‌کنند. نشاندار کردن پلاکت‌ها و فیبرینوژن نسبت به ترکیبات دیگر خون بسیار شایع می‌باشد. تغییرات واکنش‌پذیری پلاکت‌ها بدنبال فرایند نشاندار شدن را می‌توان با توجه دقیق به جزئیات فنی به حداقل رساند.

از جمله مزایای آزمون‌های اِکس‌ویوو نسبت به آزمون‌های برون‌تنی می‌توان به استفاده از جریان خون طبیعی (فراهم کردن شرایط جریان فیزیولوژیک)، امکان ارزیابی مواد متعدد به‌علت توانایی تغییر محفظه‌ها، امکان ردیابی برخی از اتفاقات در زمان واقعی اشاره نمود. برخی از معایب این روش شامل تغییر سرعت جریان خون از یک آزمون به آزمون دیگر، تغییر واکنش‌پذیری خون از یک حیوان به حیوان دیگر و معمولاً فواصل زمانی نسبتاً کوتاه می‌باشد. در این رابطه بکاربردن نمونه‌های کنترل مثبت و منفی با استفاده از همان حیوان آزمایشگاهی توصیه می‌شود.

۶-۳-۳ آزمون‌های درون‌تنی

آزمون‌های درون‌تنی شامل کاشت مواد یا وسیله در حیوانات آزمایشگاهی می‌باشد. تکه‌های عروقی[1]، پیوندهای عروقی[2]، حلقه‌های پروتز[3]، دریچه‌های قلب[4] و وسیله‌های کمکی گردش خون[5] نمونه‌هایی هستند که در آزمون‌های درون محیط موجود زنـــده بکار می‌روند. باز بودن مجاری عبور مایعات به عنوان شایع‌ترین راه اندازه‌گیری موفقیت یا شکست اغلب این آزمون‌ها است. درصد انسداد و توده ترومبوز بعد از خارج کردن وسیله تعیین می‌شود. تمایل به تشکیل لخته بر روی وسیله و ایجاد آمبولی در اندام‌های انتهایی[6]، همچنین آزمایش‌های میکروسکوپی در اندام‌هایی که در مسیر پایین دست این وسایل قرار می‌گیرند باید بطور دقیق ارزیابی گردند. علاوه بر این، ارزیابی آسیب‌شناسی بافت‌ها و اندام‌های مجاور مفید است؛ به ویژه کلیه‌ها که مستعد به دام انداختن ترومبوزهایی از وسایل کاشتنی در مسیر بالادست از شریان‌های کلیوی هستند (برای مثال وسایل تقویت‌کننده بطنی، قلب‌های مصنوعی، پیوندهای پروتزی شریان آئورت). روش‌های ارزیابی برهم‌کنش‌های درون‌تنی بدون قطع آزمون نیز در دسترس هستند. آرتریوگرام‌ها[7] جهت تعیین باز بودن پیوند یا رسوب ترومبوزها روی وسایل استفاده می‌شوند. رادیوگرافی می‌تواند جهت نشان دادن رسوب پلاکت‌ها در زمان‌های مختلف درون‌تنی بکار برده شود. بقاء و مصرف پلاکت می‌تواند بعنوان یک شاخصی برای برهم‌کنش‌های خون/ وسیله و غیرفعال شدن آن می‌تواند در اثر شکل‌گیری لایه نئواینتیما[8] یا جذب پروتئین پدید آید.

1- Vascular Patches
2- Vascular grafts
3- Prosthetic rings
4- Heart valves
5- Circulatory assist devices
6- Distal organs
7- Arteriograms
8- Neointima

در بعضی از سیستم‌های آزمون درون‌تنی، خصوصیات مواد ممکن است به عنوان عوامل تعیین‌کننده عمده در بررسی‌های برهم‌کنش‌های خون/ وسیله مطرح نباشند. در عوض عواملی مانند پارامترهای جریان، انطباق، تخلل و طراحی روش کاشتن وسیله ممکن است نسبت به سازگاری خون با مواد از اهمیت بیشتری برخوردار باشد. به عـنوان مثال، سیستم‌هایی که دارای سرعت جریان پائین هستند ممکن است نتایج قابل ملاحظه متفاوتی را در مقایسه با همان مواد اما در سیستم‌هایی با سرعت جریان بالا نشان دهند. در چنین مواردی، عملکرد سیستم آزمون درون‌تنی باید اهمیت بیشتری نسبت به نتایج آزمون در شرایط برون‌تنی داشته باشد.

پیوست الف
(اطلاعاتی)
ارزیابی بالینی وسایل قلبی-عروقی و پروتزها

الف- ۱ ملاحظات عمومی

الف- ۱-۱ کلیات

این پیوست مقدمه‌ای برای انتخاب آزمون ارزیابی برهم‌کنش‌های متقابل وسایل قلبی-عروقی با خون می‌باشد. بند ۶ این استاندارد می‌تواند راهنمایی برای سئوالات ذیل باشد:

- چه زمانی انجام آزمون الزامی است؟
- کدام گروه از برهم‌کنش‌های خون برای وسایل خاص مناسب است؟

همچنین این بخش شامل یک لیست از آزمون‌ها برای ارزیابی برهم‌کنش‌های وسایل غیر تماسی، وسایل رابط خارجی و وسایل کاشتنی است.

الف- ۱-۲ طبقه‌بندی

طبقه بندی زیر پیش زمینه‌ای را از برهم‌کنش‌های متقابل خون/ وسیله ارائه می‌کند.

الف-۱-۲-۱ برهم‌کنش‌هایی که عمدتاً روی وسیله اثر گذاشته و ممکن است دارای اثرات مطلوب یا نامطلوب بر وسیله باشند، شامل موارد ذیل می‌شوند:

۱- جذب پروتئین‌های پلاسما، لیپیدها، کلسیم یا مواد دیگر حاصل از خون بر روی سطح وسیله؛ یا جذب چنین موادی به درون وسیله؛

۲- چسبندگی پلاکت‌ها، لوکوسیت‌ها یا اریتروسیت‌ها بر روی سطح وسیله، یا جذب اجزاء آنها به درون وسیله؛

۳- ایجاد غشای کاذب یا کپسول بافتی[1] بر روی سطح وسیله؛

۴- تغییراتی در خواص مکانیکی یا خصوصیات دیگر وسیله.

الف- ۱-۲-۲ برهم‌کنش‌هایی که اثرات نامطلوب بالقوه‌ای در حیوان یا انسان دارند، شامل موارد ذیل می‌شوند:

۱- فعال شدن پلاکت‌ها، لکوسیت‌ها یا سلول‌های دیگر یا فعال شدن مسیرهای انعقاد، فیبرینولیتیک، یا کمپلمان؛

۲- تشکیل لخته بر روی سطح وسیله؛

۳- جابجائی آمبولی ترومبوتیک یا سایر مواد حاصل از سطوح داخلی وسیله به محلی دیگر همراه با گردش خون؛

۴- آسیب به سلول‌های گردش خون درنتیجه کم خونی[2]، همولیز، لکوپنی[1]، ترومبوسیتوپنی[2] یا تغییر در فعالیت فعالیت سلول‌های خون؛

1- Pseudointima or tissue capsule
2- Anemia

۵- آسیب به سلولها و بافت‌های مجاور وسیله؛
۶- هیپرپلازی انتیما[۳] یا تجمع بافت‌های دیگر روی یا مجاور وسیله در نتیجه کاهش جریان یا تأثیر بر عملکردهای دیگر وسیله؛
۷- چسبندگی و رشد باکتری‌ها و یا سایر عوامل عفونت‌زا برروی یا نزدیک وسیله.

الف- ۱-۳ مزایا و محدودیت‌های آزمون‌های درون حیوانی و آزمایشگاهی

مدل‌های حیوانی شرایط نظارت مستمر بر وسیله و بررسی کنترل اصولی متغیرهای مهم را فراهم می‌کنند. با این حال انتخاب یک مدل حیوانی ممکن است براساس اندازه مورد نیاز، در دسترس بودن گونه‌های خاص و هزینه محدود شود. مهم است که محققان تفاوت‌های فیزیولوژیکی و شباهت‌های بین گونه حیوانی انتخاب شده و انسان را به ویژه در عواملی نظیر انعقاد، عملکردهای پلاکت و تخریب فیبرین (فیبرینولیز)، و پاسخ به ترکیبات دارویی مانند مواد بیهوشی، ضد انعقادها، ترکیبات ترومبولیتیک و ضد پلاکتی، و آنتی بیوتیک‌ها در نظر بگیرند. بعلت تفاوت‌های گونه‌ای و فردی در واکنش‌پذیری و پاسخ‌های متغیر به وسیله‌های متنوع، نتایج بدست آمده از یک گونه واحد باید با احتیاط تفسیر شود. پستانداران غیر از انسان مانند بابون‌ها از نظر فاکتورهای خونی، مکانیسم انعقاد خون و سیستم قلبی-عروقی شباهت نزدیکی به انسان دارند. مزیت دیگر استفاده از پستانداران عالی غیر از انسان این است که بسیاری از پروب‌های ایمنی که در شناسایی توسعه ترومبوز در انسان نقش دارند، برای استفاده در دیگر پستانداران نیز مناسب هستند. این پروب‌ها شامل فاکتور چهار پلاکت[۴]، بتا-ترومبوگلوبولین[۵]، فیبرینوپپتید A[۶]، کمپلکس ترومبین– آنتی ترومبین[۷]، قطعات ۱+ ۲ فعال پروترومبین[۸] می‌باشند. سگ از گونه‌هائی است که بطور رایج استفاده شده و اطلاعات مفیدی را فراهم می‌کند؛ با این حال، ترومبوز ایجاد شده از طریق وسیله در سگ نسبت به انسان آسانتر اتفاق می‌افتد. چنین تفاوتی می‌تواند به عنوان یک مزیت هنگام ارزیابی این عارضه باشد. خوک بدلیل دارا بودن شباهت‌های فاکتورهای خونی و قلبی-عروقی به انسان بطور کلی به‌عنوان یک مدل حیوانی مناسب در نظر گرفته می‌شود. اثر روند جراحی کاشتن در نتایج باید مد نظر قرار گیرد و کنترل‌های مناسب نیز گنجانده شود.

به دلیل تفاوت گونه‌ها از نظر فعالیت و فاکتورهای هموستازی (خون ایستی)[۹] و خونی، بهتر است در شرایط برون‌تنی در صورت امکان از خون انسان استفاده شود.

۱- **لکوپنی** (Leukopenia) پایین آمدن تعداد گلبولهای سفید در گردش خون است.

۲- **ترومبوسیتوپنی** (Thrombocytopenia) کاهش تعداد پلاکتهای خون به کمتر از ۱۴۰۰۰۰ در هر میکرولیتر خون است.

3- Intimal hyperplasia
4- Platelet factor 4 (PF-4)
5- Beta-thromboglobulin (ß- TG)
6- Fibrinopeptide A (FPA)
7- Thrombin-antithrombin complex (TAT)
8- Prothrombin activation fragment 1 + 2 (F_{1+2})
9- Haemostatic factors

تشکیل ترومبوز یک فرآیند پویا است. بنابراین در آزمون برون‌تنی توصیه می‌شود شبیه‌سازی با شرایط پویا (برای مثال نیروهای برشی خط تماسی خون/ مواد) تا حد امکان صورت گیرد تا ترومبوز رخ دهد. در برخی موارد آزمون‌های ایستایی[1] ممکن است برای ارزیابی برهم‌کنش‌های متقابل خون با مواد نیز مفید باشند.
از آنجاییکه بیماران دارای وسیله‌های قلبی-عروقی ممکن است داروهای ضد انعقاد یا آنتی‌ترومبوز دریافت کنند، مهم است این شرایط در آزمون‌های برون‌تنی نیز شبیه سازی شود.

الف- ۱-۴ قوانین مربوط به آزمون‌های حیوانی

ترومبوزیس، ترومبوآمبولیسم، خونریزی و عفونت از جمله عوامل بازدارنده مهم جهت استفاده و توسعه بیشتر پروتزهای قلبی-عروقی پیشرفته می‌باشند. برای وسایلی که بطور محـــدود در معرض خون قرار می‌گیرند (کمتر از ۲۴ ساعت) اندازه‌گیری‌های مهم شامل تغییرات حاد در متغیرهای هماتولوژی، همودینامیک و عملکرد آنها، تشکیل لخته‌های بزرگ و امکان ایجاد آمبولی می‌باشد. برای وسایلی که بطور طولانی یا در یک یا چند نوبت بصورت تکراری و یا بطور دایم (بیشتر از ۲۴ ساعت) در معرض خون قرار می‌گیرند، استفاده از تکنیک‌های اندازه‌گیری سریالی تأکید می‌شود؛ چراکه آنها در رابطه با زمان ایجاد ترومبوزیس و ترومبوآمبولیسم، مصرف ترکیبات خون در گردش، پیشرفت هیپرپلازی انتیما و عفونت اطلاعات مفیدی را فراهم می‌کنند. در هر دو مقوله بالا، ارزیابی همولیز و عملکرد پلاکت مهم است. تشکیل لخته ممکن است تا حد زیادی تحت تأثیر تکنیک جراحی، وابستگی متغیر پدیده‌های ترومبولیتیک و آمبولی به زمان، عفونت‌های وسیله بکار گرفته شده، و تغییرات احتمالی در سطوح در معرض (برای مثال هیپرپلازی انتیما و ایجاد یک لایه اپیتلیالی[2]) باشد.
عواقب ناشی از برهم‌کنش متقابل سطوح مصنوعی با خون می‌تواند از ترومبوزیس و آمبولی شدید تا اثرات خفیف‌تر مانند مصرف سریع عناصر هموستاتیک باشد که این حالت آخر ممکن است جبران (تعداد کل پلاکت مصرف شده توسط وسیله آنقدر کم باشد که بر شمارش کل پلاکت‌ها تاثیر نداشته باشد) یا منجر به کاهش پلاکت یا فاکتورهای انعقادی پلاسما (سطح وسیله به قدری بزرگ باشد که پلاکت‌های زیادی را مصرف و درنتیجه بر شمارش کل پلاکت‌ها تاثیر داشته باشد) شود.

الف-۱-۵ قوانین مربوط به آزمون‌های برون‌تنی

انجام آزمون در شرایط برون‌تنی اجازه می‌دهد بدون قربانی کردن حیوانات و با هزینه نسبتاً کم تعداد کافی آزمون (مناسب برای ارزیابی آماری) انجام شود. اندازه‌گیری‌ها شامل تغییرات حاد در متغیرهای هماتولوژی، همودینامیک و عملکرد آنها، تشکیل لخته‌های بزرگ و فعال شدن کمپلمان می‌باشد. این آزمون‌ها همچنین امکان مطالعه سینتیکی عوامل مختلف و فعالیت‌های آنها را با تغییر طول مدت در معرض قرار گرفتن مواد یا وسیله‌ها با خون فراهم می‌کنند.

1- Static tests
2- Endothelialization

الف-۲ کانولا

کانولا معمولاً در داخل یک یا چند عروق اصلی جهت دسترسی مجدد خون قرار داده می‌شود. آنها همچنین در طی انجام بای پس‌های قلبی-ریوی و سایر اعمال جراحی نیز استفاده می‌شوند. کانولا می‌تواند تحت آزمون‌های سریع یا جهت آزمون‌هائی با مدت زمان طولانی قرار گیرند و معمولاً بصورت شنت‌های شریانی وریدی[1] مورد مطالعه قرار می‌گیرند. استفاده از این لوله‌ها تغییرات مختصری در میزان سلول‌های گردش خون یا فاکتورهای انعقادی یا سیستم کمپلمان ایجاد می‌کند. کانولا همانند سایر وسیله‌هایی که ارتباط غیرمستقیم با خون دارند (طبق بند ۵-۲-الف) بطور کلی نیاز به آزمون‌های کمتری نسبت به وسیله‌هایی که در تماس مستقیم با جریان خون هستند (طبق بند ۵-۲-ب و ۵-۳) دارند.

الف- ۳ کاتترها و لوله‌های راهنما

اکثر آزمون‌هائی که در مورد کانولا در نظر گرفته می‌شوند مربوط به بررسی کاتترها و لوله‌های راهنما هستند. محل قرار گرفتن یا قرار دادن کاتتر در سیستم داخل شریانی یا وریدی می‌تواند تاثیر عمده‌ای بر برهم‌کنش‌های متقابل خون/وسیله داشته باشد. توصیه می‌شود که مطالعات کنترل بطور همزمان با استفاده از یک شریان یا ورید مقابل انجام شود. در هنگام در آوردن کاتتر باید احتیاط شود تا ترومبوز جدا نشود.
ارزیابی محل[1] ممکن است اجازه تشخیص میزان صدمات انتیما یا محل ورود که در فرایند ترومبوتیک همکاری می‌کنند را بدهد. بطور کلی، اندازه‌گیری جریان خون داپلر اطلاعات ارزشمندتری را نسبت به آنژیوگرافی می‌دهد. مطالعات سینتکی توسط ترکیبات خون نشاندارشده فقط در هنگام انجام کاتترهای طولانی مدت توصیه می‌شود.

الف-۴ وسایل اکسیژن‌ساز خارج تنه‌ای، وسایل جهت انجام همودیالیز، تجهیزات آفرزدرمانی و وسیله‌های جاذب مواد خاص از خون

پاسخ هموستاتیک در جراحی‌های بـای پـس قلبی-ریوی می‌تواند بسیار قابل توجه و حاد باشد. بسیاری از متغیرها مانند استفاده از ساکشن خون، ترکیبات وسیله پمپاژ جریان خون، پائین بودن درجه حرارت، تماس خون با هوا و مدت زمان در معرض قرار گرفتن در نتایج آزمون‌ها اثر می‌گذارند. آمبولی در مسیرهای خارج جریان ممکن است توسط قرار دادن دوره‌ای فیلترهای خون در شرایط اِکس‌ویوو یا با استفاده از پرتودهی مافوق صوت و یا دیگر روش‌های غیر تهاجمی تشخیص داده شود. تجمع لخته را می‌توان مستقیماً در حین عمل بای‌پس با کنترل کردن عملکرد فاکتورهائی مانند افت فشار توسط وسیله اکسیژن‌ساز و سرعت انتقال اکسیژن ارزیابی نمود. یک اختلال عملکرد پلاکت در ارتباط با انتشار انتخابی گرانول آلفا در بیمارانی که بای‌پس قلبی-

1- Arteriovenous (AV) shunts
1- *In situ* evaluation

ریوی انجام داده‌اند، مشاهده شده است؛ الگوی زمان خونریزی و آزمون‌های دیگر سنجش عملکرد و آزاد شدن پلاکت سودمند هستند.

فعال شدن کمپلمان توسط هر دو وسیله همودیالیز و بای‌پس قلبی-ریوی صورت می‌گیرد. از نظر بالینی لکوستازیس ریوی[1] و آسیب ریه قابل توجهی همراه با اختلال کار این عضو نیز می‌تواند رخ دهد. به این دلیل، اندازه گیری میزان فعال شدن کمپلمان در هنگام استفاده این وسایل ضروری می‌باشد.

تجهیزات افرزیس درمانی و وسایل جذب مواد مخصوص از خون به دلیل بالابودن نسبت سطح به حجم وسیله می‌توانند بطور بالقوه سبب فعال نمودن مسیرهای کمپلمان، انعقاد، پلاکت و لکوسیت گردند. آزمون برهم‌کنش‌های متقابل خون/ وسیله در این مورد باید همان اصولی را پیروی کند که جهت وسایل کمکی اکسیژن‌ساز و همودیالیزها انجام می‌شود.

الف-۵ وسایل تقویت کننده بطنی و قلب‌های مصنوعی

این وسایل می‌توانند منجر به تغییرات قابل توجهی در اجزای مختلف خون شوند. عوامل دخیل در ایجاد چنین اثراتی شامل سطح خارجی وسیع در معرض خون، جریان بالا و اختلال در جریان مناطق مانند آشفتگی و جداشدن جریان است. آزمون‌های چنین وسایلی ممکن است شامل اندازه‌گیری‌های همولیز، غلظت فیبرینوژن، ایجاد ترومبین، بقاء و فعال شدن پلاکت، فعال شدن کمپلمان و بررسی دقیق عملکرد کبد، کلیه، ریه، و سیستم عصبی مرکزی باشد. جزئیات آزمایش‌های آسیب‌شناسی در جراحی‌های بازیابی[2] یک جزء مهم از ارزیابی می‌باشد.

الف-۶ دریچه‌های قلب مصنوعی

مطالعات تهاجمی، غیرتهاجمی و هیدرودینامیک آزمایشگاهی در ارزیابی دریچه‌های مصنوعی حائز اهمیت می‌باشد.

یکی از مؤثرترین ابزارهای غربالگری اختلال عملکرد دریچه مصنوعی شنیدن[3] است. اکوکاردیوگراف در حالت‌های 2D و M از امواج اولتراسونیک برای ایجاد تصـــاویر قلب استفاده می‌کنند. بازتاب از مواد با امپدانس‌های مختلف صوتی دریافت و به شکل یک تصویر پردازش می‌شود. ساختار دریچه مصنوعی می تواند مورد بررسی قرار گیرد. پروتزهای مکانیکی سیگنال‌های اکو قوی منتشر می‌کنند و جابجایی اکلودر[4] معمولاً می‌تواند به وضوح به تصویر کشیده شود. با این حال کیفیت تصویر ممکن است به دریچه مصنوعی خاص مورد بررسی بستگی داشته باشد. اکوکاردیوگرافی همچنین می‌تواند در ارزیابی عملکرد پروتزهای دریچه مشتق از بافت مفید باشد. زندگی نباتی، لخته شدن و شواهدی از ضخیم شدن بخش‌های دریچه‌ها مشخص شده است. با استفاده از اکوکاردیوگرافی معـــمولی و اکوکاردیوگرافی همراه با جریان داپلر رنگی، نارسایی را می‌توان شناسایی و تا حدی اندازه‌گیری کرد.

1- Pulmonary leucostasis
2- Surgical retrieval
3- Auscultation
4- Movement of the occluder

اندازه‌گیری بقاء و تجمع پلاکت، آزمون‌های خون برای ترومبوز و همولیز، اندازه‌گیری فشار و جریان خون، و کالبد شکافی دریچه و بافت‌های مجاور نیز توصیه می‌شود.

الف- ۷ پیوندهای عروقی

هر دو مواد متخلخل و غیر متخلخل را می‌توان در نواحی مختلف شریان‌ها و یا سیستم وریدی نصب کرد. انتخاب موضع استقرار تا حد زیادی به هدف کاربری پروتز بستگی دارد. قدرت نفوذ[1] یک پیوند فرضی با قطور شدن و کوتاه‌تر شدن طول پیوند افزایش می‌یابد. بطورکلی برای پیوندهایی با قطر درونی کمتر از چهار میلی‌متر انـــدازه طول پیوند باید از ضـــخامت آن، با احتـــساب فاکتوری از ده، بیشتر باشد (برای مثال اندازه چهل میلی‌متر طول برای یک پیوند با قطر چهار میلی‌متر) که این به عنوان یک مدل معتبر در نظر گرفته می‌شود. قدرت نفوذ می‌تواند با لمس نبض دیستال در بعضی از نواحی اطراف پیوند و بوسیله آنژیوگرافی متناوب ثبت شود. استفاده از تابش امواج ماورای صوت، تصویربرداری رزونانس مغناطیسی[2] و توموگرافی گسیل پوزیترون[3] نیز ممکن است مفید باشند. نتایج حاصل از مطالعات سریالی تصویربرداری پلاکت نشاندار با مساحت سطح پیوند بدون لایه اندوتلیوم در بابون‌ها ارتباط دارد. پلاکت‌های نشاندار، تصویربرداری غیر تهاجمی از تجمع ترومبوتیک در دیواره عروق را تسهیل می‌کند. اندازه‌گیری سریالی فاکتورهایی نظیر: شمارش پلاکت، آزاد شدن اجزاء پلاکت، محصولات تخریب فیبرینوژن/فیبرین و ترکیبات حاصل از فعال شدن انعقاد نیز توصیه می‌شود. کالبد شکافی از پیوند و عروق مجاور پیوند جهت مطالعات مورفومتری یکپارچگی اندوتلیال و پاسخ به تکثیر نیز می‌توانند اطلاعات ارزشمندی را فراهم نمایند. برای ارزیابی کامل وسیله، یک سنجش نظام‌مند از برش‌های طولی و عرضی از نواحی آناستوموز[4] پروگزیمال و دیستال و مناطق میانی پیوند ضروری است.

الف-۸ فیلترهای ورید اجوف تحتانی و استنت‌ها

این وسایل را می‌توان با آنژیوگرافی و پرتودهی مافوق صوت مورد مطالعه قرار داد. تکنیک‌های دیگر قابل استفاده برای ارزیابی پیوند عروق (طبق بند الف-۷) در این قسمت نیز مناسب هستند.

1- Patency
2- Magnetic resonance imaging (MRI)
3- Positron emission tomography (PET)
۴- آناستوموز عروقی (Circulatory anastomosis)؛ به معنی ایجاد یک پیوند بین عروق است. پیوند ممکن است بین شریان و ورید یا شریانی-وریدی، پیوند بین ورید با ورید، یا شریان با شریان باشد. این پیوندها می‌توانند بصورت طبیعی (فیزیولوژیک)، بصورت غیر طبیعی (پاتولوژیک) و یا در اثر اقدامات درمانی ایجاد شوند.

پیوست ب
(اطلاعاتی)

آزمون‌های آزمایشگاهی– اصول، مبنای علمی و تفسیر

ب-۱ کلیات

ب-۱-۱ مقدمه

اصول و مبنای علمی آزمون‌های ذکر شده در بند ۶-۲-۱ در پیوست ب شرح داده شده است. جزئیات روش‌ها در متون استاندارد آزمایشگاه پزشکی و آسیب شناسی بالینی نیز یافت می‌شوند. منابع اشاره شده در پیوست منابع تکمیلی آزمون‌هایی را که ممکن است در ارزیابی برهم‌کنش‌های متقابل بین خون و وسیله مفید باشند، شرح می‌دهد. بـــه علت دو مقوله متغیرهای بیولوژیکی و محدودیت‌های تکنیکی، دقت بسیاری از این آزمون‌ها محدود می‌باشد.

ب-۱-۲ اصول آزمون در شرایط آزمایشگاهی برون‌تنی

از سیستم‌های ایستا و پویا، به عنوان مثال از لوپ‌های چرخشی و سانتریفوژ، استفاده می‌شود.

ب-۱-۳ شرایط آزمون

به منظور بررسی برهم‌کنش‌های متقابل بین خون و وسیله در شرایط آزمایشگاهی برون‌تنی، خون یا پلاسمای منعقد نشده، پس از جمع‌آوری از افراد سالم انسان یا حیوانات آزمایشگاهی، ابتدا باید در معرض مواد یا وسیله تحت شرایط استاندارد از جمله مدت زمان، درجه حرارت و جریان قرار بگیرد. سپس، بخشی از خون یا پلاسما که در معرض تماس با مواد یا وسیله بوده‌اند بعد از مدت کوتاهی مورد آزمون قرار می‌گیرند. شرایط تماس باید براساس استفاده مورد نظر از وسیله باشد.

در آماده‌سازی نمونه‌های آزمون، ضروری است از فعال شدن یا آزاد شدن هر یک از ترکیبات خون قبل از انجام آزمون، جلوگیری شود. به هرحال شرایط مناسب برای آزمون بستگی به نوع وسیله یا مواد مورد آزمون و استفاده نهایی وسیله دارد.

ب-۱-۴ طبقه‌بندی

در هنگام ارزیابی وسایل رابط خارجی و کاشتنی، زمانیکه در حال استفاده هستند، خون همراه با ماده ضد انعقاد جمع آوری شده و آزمون بدون مرحله در معرض قرار گرفتن با وسیله انجام می‌شود. آزمون‌ها با توجه به روند یا سیستم در حال آزمایش به پنج گروه (طبق بند ۶-۲-۱) شامل: تشکیل لخته، فرایند انعقاد، پلاکت‌ها و عملکرد آنها، هماتولوژی و سیستم کمپلمان تقسیم می‌شوند.

ب-۲ فرایند ایجاد لخته (ترومبوزیس)

ب-۲-۱ درصد انسداد

درصد انسداد را می‌توان بطور چشمی بعد از قرار دادن و کارکرد وسیله و سپس خارج کردن آن تعیین مقدار نمود. در این روش شدت روند ترومبوتیک در مسیر خون اندازه گیری می‌شود. فقدان انسداد ضرورتاً به معنای عدم فرآیند ترومبوز نیست، چراکه لخته‌های ایجاد شده ممکن است آمبولی یا قبل از اندازه‌گیری درصد انسداد از محل خود جابجا شده باشند. انسداد ممکن است نه تنها توسط ترومبوز بلکه توسط اینتیمال هیپرپلازی[1] مخصوصاً در مکان‌های آناستوموز با پیوندهای عروقی نیز ایجاد شود؛ که در این موارد آزمایش میکروسکوپی برای شناسایی ماهیت فرآیند انسداد مورد نیاز است. از جمله آزمون‌های نیمه‌کمی، تعیین سطح تحت پوشش ترومبوز و سطح آزاد-ترومبوز است که می‌توانند بر اساس مقایسه باشند.

ب-۲-۲ کاهش جریان

جریان خون (سرعت یا حجم) پس از یک دوره استفاده وسیله اندازه‌گیری می‌شود. اندازه‌گیری‌ها ممکن است یا در حین استفاده، یا قبل و پس از استفاده از وسیله انجام گردد. اساس منطق و تفسیر مشابه بند ب-۲-۲ می‌باشد.

ب-۲-۳ آنالیزهای وزنی (مقدار لخته)[2]

این آزمون بعد از برداشتن وسیله از محل استفاده و کارکرد آن انجام می‌گیرد. اساس منطق و تفسیر مشابه بند ب-۲-۲ می‌باشد.

ب-۲-۴ میکروسکوپ نوری

توسط این روش، اطلاعاتی را می‌توان در زمینه دانسیته سلول‌ها، تجمع سلول‌ها و چسبندگی فیبرین به مواد همچنین توزیع ترکیبات مختلف خون در سطح مواد یا وسیله بدست آورد. روش نیمه کمی است.

ب-۲-۵ افت فشار در اطراف وسیله

این اندازه‌گیری قبل و بعد از یک دوره استفاده وسیله انجام می‌شود. اساس منطق و تفسیر مشابه بند ب-۲-۲ می‌باشد.

ب-۲-۶ میکروسکوپ الکترونی روبشی[3]

اساس منطق و تفسیر مشابه بند ب-۲-۵ می‌باشد. البته، این روش بدلیل ارائه جزئیات بیشتر در زمینه ساختار ظریف اجزای مورد آزمون نسبت به بند ب-۲-۵ مزیت بیشتری دارد. نتیجه‌گیری‌های کمی برای ایجاد درجه‌ای از تکرارپذیری نیاز به انتخاب تکرارهای کافی نیز دارد.

1- Intimal hyperplasia
2- Gravimetric analysis (thrombus mass)
3- Scanning electron microscopy (SEM)

ب-۲-۷ اتصال آنتی‌بادی

در کنار تفسیر کیفی نتایج میکروسکوپی در رابطه با رسوب پلاکت و فیبرین بر روی مواد وسیله، یک تخمین کمی با اندازه‌گیری میزان آنتی‌بادی نشاندار علیه فیبرین (فیبرینوژن) یا گیرنده‌های غشاء پلاکتی امکان‌پذیر است. بدین منظور مواد پس از قرار گرفتن در مجاورت خون باید شسته شوند تا اجزای خونی غیر چسبنده قبل از اتصال آنتی‌بادی نشاندار حذف گردند.

ب-۲-۸ بازیابی و بررسی وسیله

این روش در ارزیابی پاسخ‌های بیولوژیکی نسبت به وسایل کاشتنی از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد. توزیع، اندازه و ماهیت میکروسکوپی رسوبات سلولی و پروتئینی می‌توانند توسط یک بررسی دقیق به خوبی تعیین شوند. روش‌های پیشنهادی در پیوست منابع تکمیلی آورده شده است.

ب-۲-۹ کالبد شکافی (اتوپسی) اندام‌های دیستال

بررسی اثرات وسایل کاشتنی در فواصل دورتر منطقی است. این اثرات شامل ترومبوآمبولیسم و آمبولیزاسیون اجزای وسیله می‌باشد.

ب-۲-۱۰ تکنیک‌های تصویربرداری-آنژیوگرافی، اولتراسوند داخل عروقی، اولتراسوند داپلر، CT و MRI

از بین تکنیک‌های مذکور برای تعیین قدرت نفوذ یا درجه تنگی یک پیوند یا دیگر مجراها و همچنین برای تشخیص رسوب ترومبوز در وسایل در حین عملکردشان در شرایط آزمون‌های درون‌تنی می‌توان تکنیک(های) خاصی را انتخاب کرد.

ب-۳ انعقاد

روش‌های انعقاد بر اساس استفاده از خون طبیعی (تازه، منعقد نشده)، خون منعقد شده (معمولاً سیتراته)، پلاسمای غنی از پلاکت یا پلاسمای فاقد پلاکت می‌باشند. از آنجایی‌که بسیاری از سنجش‌های استاندارد انعقاد برای تشخیص اختلالات انعقادی بالینی که منجر به تاخیر در لخته‌شدن و یا خونریزی بیش از حد می‌شوند، طراحی شده‌اند پروتکل‌های ارزیابی برهم‌کنش‌های متقابل بین خون و وسیله باید به صورت مناسب برای ارزیابی انعقاد سریع ناشی از مواد زیستی[1] اصلاح شوند. مواد واکنشگر برای انجام آزمون‌هایی بر اساس زمان ترومبوپلاستین نسبی فعال[2] شامل فعال کننده‌هایی مانند کائولین[3]، سلیت[4] یا اسید الاگیک[5] می‌باشند. مواد واکنشگر با چنین فعال کننده‌هایی بدلیل تمایل آنها به پنهان کردن سرعت انعقاد ناشی از مواد و وسیله‌ها نباید

1- Biomaterials
2- Activated partial thromboplastin time (APTT)
3- Kaolin
4- Celite
5- Ellagic acid

استفاده شوند. موادی که مورد آزمون قرار می‌گیرند باید شامل موادی به عنوان فعال‌کننده، کنترل (بدون مواد) باشند.

خون در معرض مواد مورد آزمون یا در یک محفظه ایستایی، مانند یک پلیت سلولی موازی، یا در یک سیستم لوپ بسته بطوریکه سطح داخلی لوپ ماده مورد آزمون باشد، قرار می‌گیرد. پس از گذشت زمان از پیش تعیین شده با سطح ماده مورد آزمون، آزمون‌های سطح تحت تماس و خون می‌توانند انجام شوند.

ب-۳-۱ زمان نسبی ترومبوپلاستین[1]

زمان نسبی ترومبوپلاستین به عنوان زمان انعقاد پلاسمای سیترانه دوباره کلسیفیه شده با اضافه شدن ترومبوپلاستین می‌باشد. ترومبوپلاستین نسبی یک محلول سوسپانسیون فسفولیپید است که معمولاً از ترومبوپلاستین بافت، محلول هموژنیزه ریه یا مغز پستانداران استخراج می‌گردد. کوتاه شدن PTT به دنبال تماس با مواد، تحت شرایط استاندارد، فعال شدن فاز تماسی انعقاد خون را نشان می‌دهد. طولانی شدن PTT نیز یک کمبودی را در هر یک از فاکتورهای انعقادی پلاسما مانند فاکتورهای I (فیبرینوژن)، II (پروترومبین)، V، VIII، IX، X، XI، یا XII بجز فاکتورهای VII و XIII پیشنهاد می‌کند. هپارین و دیگر ضد انعقادها نیز باعث افزایش PTT می‌گردند.

معرف‌های ترومبوپلاستین نسبی، از مواد فعال‌کننده مختلفی مانند کائولین یا سلیت که بصورت تجارتی در دسترس هستند، استفاده می‌کنند. در صورت استفاده از این معرف‌ها، آزمون "زمان ترومبوپلاستین نسبی فعال" (APTT) نامیده می‌شود. استفاده از APTT در ارزیابی اثرات برهم‌کنش‌های متقابل بین وسیله و خون در شرایط برون‌تنی ارزش چندانی ندارد زیرا فعال شدن این مواد هر گونه فعال شدن ناشی از وسیله یا اجزای تشکیل دهنده آن را تحت الشعاع قرار می‌دهد.

ب-۳-۲ زمان پروترومبین[2]

این آزمون پروترومبین و و فاکتورهای کمکی را اندازه گیری می‌کند. زمان انعقاد بستگی به غلظت پروترومبین، و فاکتورهای V، Vll و X دارد (با فرض اینکه فعالیت فیبرینوژن، فیبرینولیتیک و ضدانعقاد بصورت طبیعی باشد). افزایش زمان PT معمولاً کمبود پروترومبین یا فاکتور V، Vll، X یا فیبرینوژن را نشان می‌دهد. کیت‌های آزمایشگاهی بصورت تجارتی در دسترس می‌باشند.

ب-۳-۳ زمان ترومبین[3]

زمان ترومبین عبارت است از زمان مورد نیاز برای تشکیل لخته از پلاسما موقعی که یک محلول ترومبین اضافه شود. زمان ترومبین با کمبود فیبرینوژن (کمتر از ۱۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر)، اختلالات کیفی در فیبرینوژن و

1- partial thromboplastin time (PTT)
2- Prothrombin time (PT)
3- Thrombin time (TT)

افزایش سطح فرآورده‌های حاصل از تجزیه فیبرین و فیبرینوژن (پاره‌های فیبرینی)[1] یا هپارین طولانی می‌گردد. این آزمون فقط برای ارزیابی وسایل کاشتنی مفید است.

ب-۳-۴ تولید ترومبین

مواد در معرض یک سیستم انعقادی کامل در حضور فسفولیپیدها (به بند ب-۳-۱ مراجعه کنید) ترومبین تولید خواهند کرد که می‌تواند توسط تبدیل یک سوبسترای رنگی[2] اندازه گیری شود. این روش نسبت به روش‌های آزمون انعقادی معمولی تغییرپذیری کمتری دارد.

ب-۳-۵ فیبرینوژن

اختلال عمل فیبرینوژن و عدم فیبرینوژن و کاهش آن سبب طولانی شدن نتایج PT، PTT و TT می‌گردد.

ب-۳-۶ فیبرینوژن و محصولات تجزیه فیبرین (FDP)

تخریب فیبرین در شرایط فیزیولوژیکی سبب تولید FDPهای X، Y، C، D و E در غلظت‌های کمتر از ۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر پلاسما می‌شود. در حالت طبیعی مقدار کم FDPها توسط سرعت پایین واکنش تخریب و افزایش سرعت حذف FDPها از جریان خون حفظ می‌شود. در شرایط پاتولوژیکی تخریب فیبرین و فیبرینوژن، سبب افزایش فعال شدن پلاسمینوژن و بدنبال آن افزایش غلظت FDP از از ۲ میلی‌گرم در دسی‌لیتر به ۴۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر یا حتی بیشتر می‌شود. این آزمون فقط برای ارزیابی وسایل کاشتنی مفید است. استفاده از روش‌های قابل دسترس تجاری نیز توصیه می‌شود.

ب-۳-۷ سنجش‌های فاکتور اختصاصی انعقاد

کاهش قابل توجه (برای مثال به میزان کمتر از ۵۰٪ نسبت به سطح عادی یا کنترل) فاکتورهای انعقادی بعد از در معرض قرار گرفتن خون در برابر مواد یا وسیله تحت شرایط استاندارد، افزایش مصرف این فاکتورها را بوسیله جذب سطحی، انعقاد و یا مکانیسم‌های دیگر پیشنهاد می‌دهد.

ب-۳-۸ فیبرینوپپتید A (FPA)، دایمر–D (D-dimer)، قطعات ۱+ ۲ فعال پروترومبین (F_{1+2})، کمپلکس ترومبین– آنتی ترومبین (TAT)

افزایش میزان هر یک از موارد فوق نشان دهنده فعال شدن مکانیسم انعقاد می‌باشد. فاکتورهای FPA و F_{1+2} فعال شدن پروترومبین به ترومبین را نشان می‌دهند. افزایش کمپلکس‌های TAT فعال شدن انعقاد خون و ایجاد یک کمپلکس بین ترومبین تولید شده و آنتی‌ترومبین در حال گردش را نشان می‌دهد. دایمرهای-D پلاسمین هضم شده محصولات تخریب F XIII با اتصال عرضی به فیبرین (انعقاد و تخریب فیبرین) می‌باشند. استفاده از روش‌های سنجش الایزا[3] و سنجش ایمونولوژیک رادیواکتیو[4] توصیه می‌شود.

1- Fibrin/fibrinogen degradation products (FDP)
2- Chromogenic substrate
3- Enzyme/linked immunosorbent assay (ELISA)
4- Radioimmunoassay (RIA)

ب-۴ پلاکت ها و وظایف آنها

در آماده‌سازی سوسپانسیون‌های پلاکت ضروری است که از فعال شدن جلوگیری شود.

ب-۴-۱ شمارش پلاکت

شمـــارش پلاکت‌ها بدلیل نـقش کلیدی آنها در جلوگیری از خونریزی حائز اهمـــیت می‌باشد. کاهش قابل توجه تعداد پلاکت در خونی که در معرض یک وسیله قرار گرفته ممکن است در اثر چسبندگی پلاکت‌ها به سطوح تماسی، چسبندگی پلاکت‌ها به یکدیگر، تجزیه پلاکت (برای مثال در طحال) یا منعقد شدن خون روی مواد یا وسیله‌ها باشد. کاهش تعداد پلاکت در حین کـــاربرد وسایل کاشتنی نیز ممکن است بعلت تخریب ســـریع یا حذف پلاکت‌ها از گردش خون ایجاد شود. شمـــارش پلاکت با استفاده از محیط حاوی اتیلن دی آمین تترا استیک اسید[1] انجام می‌شود.

تکنیک‌های جمع‌آوری خون باید تجدیدپذیر باشند. فعالیت پلاکت‌ها می‌تواند تحت بسیاری از شرایط مانند جمع‌آوری نامناسب خون افزایش یابد. آزمون‌های بررسی واکنش‌پذیری پلاکت طبیعی معمولاً با استفاده از یک توده سنج (آگریگومتر)[2] انجام می‌شود. این روش به‌آسانی توانایی شناسایی پلاکت‌ها با واکنش پذیری پایین را دارد اما پلاکت‌ها با فعالیت بیش از حد[3] (هایپراکتیو) معمولاً با این روش شناسایی نمی‌شوند. آزمون‌های تجمع پلاکت می‌توانند برای تعیین پلاکت‌هایی که پس از در معرض قرار گرفتن با وسیله یا با مواد هایپراکتیو می‌شوند، اصلاح شوند (با کاهش مناسب غلظت پلاکت یا ترکیبات تجمع‌کننده[4]).

ب-۴-۲ تجمع پلاکتی (چسبندگی پلاکت‌ها به یکدیگر)

تجمع پلاکتی در نتیجه افزودن ترکیبات تجمع‌کننده به پلاسمای غنی از پلاکت[5] در حالی که دائماً این مجموعه مخلوط می‌شوند، حاصل می‌شود (این فاکتورها شامل آدنوزین دی فسفات[6]، اپی نفرین، کلاژن، ترومبین و غیره است). در حالیکه تجمع پلاکتی اتفاق می‌افتد پلاسما بتدریج واضح‌تر می‌شود. از یک سیستم نوری بنام آگریگومتر برای شناسایی تغییر انتقال نور و ضبط گرافیکی نمایش تغییرات در انتقال نور از تنظیمات پایه استفاده می‌شود. تأخیر یا کاهش تجمع پلاکتی ممکن است بر اثر فعال شدن پلاکت‌ها و رهاشدن محتوای گرانولی، افزایش FDP یا داروهای خاص (مانند آسپرین، داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی[7]) ایجاد شود. نکته مهمی که باید مورد توجه قرار گیرد تجمع پلاکتی با استفاده از بعضی از فاکتورها متغیر بوده و ممکن است در بعضی از گونه‌های حیوانی وجود نداشته باشد. تجمع پلاکتی بصورت خودبخودی که در فقدان داروهای رقابتی

1- Ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA)
2- Aggregometer
3- Hyperavtive
4- Aggregating agents
5- Platelet-rich plasma (PRP)
6- Adenosine diphosphate (ADP)
7- Nonsteroid anti-inflammatory drugs (NSAIDs)

(آگونیست‌ها[1]) ایجاد می‌شود به عنوان یک حالت غیرطبیعی، فعال شدن پلاکت‌ها را نشان می‌دهد. تجمع پلاکتی می‌تواند بطور خودکار توسط روش WU/HOAK نیز غربالگری شود.

ب-۴-۳ چسبندگی سلول‌های خونی

چسبندگی سلول‌های خونی یک سنجشی از سازگار بودن مواد با خون است هنگامی که ارتباط با آمبولیزاسیون دیستال یا شواهدی از فعال شدن یک یا چند فاکتور خونی در نظر گرفته می‌شود.

روش‌های مختلفی جهت اندازه‌گیری چسبندگی سلول‌ها به سطوح طراحی شده است، برای مثال: Kuniki K-score. بیشتر این روش‌ها بر پایه مشاهده حذف نسبت معینی از پلاکت‌های خون طبیعی پس از عبور از یک ستون حاوی دانه‌های شیشه‌ای[2] تحت شرایط کنترل شده جریان و فشار می‌باشد. این اصل براساس مقدار چسبندگی سلول‌های خونی دیگر به پوشش پلیمری دانه‌های شیشه‌ای است. با استفاده از چنین روشی چسبندگی کمتر لنفوسیت‌های محیطی و لکوسیت‌های چند هسته‌ای[3] گونه‌های سگ به دانه‌های پوشیده شده با پلی هیدروکسی اتیل متاکریلات[4] نسبت به دانه‌های شیشه‌ای پوشیده با پلی استیرن[5] و دیگر پلیمرهای خاص گزارش شده است.

یک روش جایگزین، شمارش مستقیم پلاکت چسبیده به سطح نمونه مورد آزمون است. در این روش، پس از در معرض قرار گرفتن نمونه با خون یا پلاسمای غنی از پلاکت تحت شرایط استاندارد، سطح نمونه مورد آزمون برای برداشتن و حذف سلول‌های غیر چسبیده شسته شده و پس از فیکس کردن برای هر دو میکروسکوپ نوری یا میکروسکوپ اسکن الکترونی آماده می‌شود .تعداد پلاکت‌های چسبیده در واحد سطح مستقیماً شمارش شده و مورفولوژی آنها (برای مثال توزیع، مقدار تجمع) ثبت می‌گردد. در روش دیگر می‌توان از پلاکت‌های نشان‌دار شده از قبل بوسیله کروم ^{51} (^{51}Cr) یا ایندیوم ۱۱۱ (^{111}In) استفاده نمود.

ب-۴-۴ فعال شدن پلاکت

استفاده از مواد یا وسایل خاص ممکن است منجر به فعال شدن پلاکت شود، که می‌تواند پیامدهای ذیل را بدنبال داشته باشد:

۱- انتشار ترکیبات گرانول پلاکت مانند: بتاترومبوگلوبولین[6]، فاکتور پلاکت ۴[7]، و سروتونین

۲- تغییر مورفولوژی پلاکت

۳- تولید اجزای ریز[8] پلاکتی

1- Agonist
2- Glass beads
3- Polymorphonuclear leukocytes (PMNs)
4- Poly(hydroxyethylmethacrylate) (PHEMA)
5- Polystyrene
6- Beta thromboglobulin (BTG)
7- Platelet factor 4 (PF 4)
8- Platelet microparticles

پلاکت‌های فعال شده پروترومبیک[1] هستند. فعال شدن پلاکت را می‌توان با روش‌های مختلف مورد بررسی قرار داد: بررسی میکروسکوپی (میکروسکوپ نوری و الکترونی) مورفولوژی پلاکت و پلاکت‌های چسبیده به مواد یا وسیله، اندازه‌گیری BTG، PF 4 و سروتونین و ارزیابی فعال شدن پلاکت توسط فلوسیتومتری[2] (برای تولید اجزای ریز، بیان سلکتین-P [3] (GMP-140)، یا بیان گلیکوپروتئین فعال شده IB[4] و IIB/IIIa [5] با استفاده از آنتی‌بادی‌های نشاندار. اپی‌توپ‌های متفاوت پلاکت‌های فعال شده از طریق فلوسیتومتری با استفاده از دو آنتی‌بادی: یکی اختصاصی برای پلاکت‌ها (مانند: GP Ib یا GP IIb/IIIa) و دیگری اختصاصی برای فعال شدن پلاکت‌ها (P-Selectin) مشخص می‌شوند.

ب-۴-۵ زمان خون‌ریزی الگو

دسترسی تجاری وسیله یک بار مصرف استریل برای ایجاد برش پوستی با عمق و طول استاندارد تحت شرایط استاندار باعث بهبود قابل توجهی در تکرارپذیری و ارزش این آزمون شده است. نتیجه طولانی مدت، کاهش فعالیت یا کاهش تعداد پلاکت‌ها را نشان می‌دهد که کاهش تعداد پلاکت‌ها را می‌توان بطور جداگانه در بند ب-۴-۱ مورد توجه قرار داد. طولانی شدن زمان خونریزی همراه با تعداد طبیعی پلاکت‌ها در برخی از وسایل رابط خارجی که در تماس محدود بوده‌اند، مشاهده شده است (مانند شرایط بای پس قلبی-ریوی). برای این آزمون استفاده از برخی حیوانات آزمایشگاهی مناسب است. اندازه‌گیری‌های زمان خونریزی در شرایط آزمایشگاهی برون‌تنی نیز مناسب می‌باشد.

ب-۴-۶ بررسی عملکرد پلاکت

زمان خونریزی قالب کلاسیک به عنوان اصل برای یک روش خودکار استفاده می‌شود. همه خون از طریق یک فیلتر کلاژن با روزنه ۱۵۰ میکرومتر هواگیری می‌شود. تا زمانی که روزنه بسته است پلاکت‌ها به یکدیگر چسبیده و تجمع می‌یابند. فشار خون و درجه حرارت تحت شرایط استاندارد تنظیم می‌شوند، ضدانعقاد بر این آزمون تاثیر ندارد. آزمون برای خون حیوانات مناسب است.

ب-۴-۷ تصویربرداری گاما از پلاکت‌های نشاندار[6]

نشر بالای گامای ^{111}In امکان استفاده از آن را برای این هدف فراهم می‌کند. این روش استقرار و تعیین کمی پلاکت‌های ته‌نشین شده بر روی یک وسیله را قادر می‌سازد. این تکنیک برای وسایل رابط خارجی و هچنین وسایل کاشتنی سودمند است.

ب-۴-۸ طول عمر پلاکت (بقاء)

1- Pro-thrombotic
2- Flow cytometry
3- P-selectin
4- Glycoprotein Ib (GP Ib)
5- Glycoprotein IIb/IIIa (GP IIb/IIIa)
6- Gamma imaging of radiolabelled platelets

پلاکت‌هائی که از خون بیمار بدست می‌آیند توسط ^{51}cr یا ^{111}In نشاندار می‌شوند. هر دوی این ترکیبات، پلاکت‌ها را در هر سنی که در نمونه باشند نشاندار کرده، بیش از حد از پلاکت‌ها شسته نمی‌شوند و این عناصر بوسیله سلول‌های دیگر جذب نشده و در حین ترومبوپوسیس[1] مجدداً قابل استفاده نیستند. از آنجاییکه ^{111}In دارای نشر بالای گاما است نیاز به نشاندار کردن پلاکت‌های کمتری دارد و توانائی محاسبه سطوح به منظور ارزیابی استقرار پلاکت‌ها همراه با مطالعه طول عمر آنها را نیز دارد. کاهش عمر پلاکت‌ها نشان دهنده تسریع برداشت آنها از گردش خون بوسیله سیستم ایمنی، ترومبوتیک یا سایر فرآیندها است.

ب-۵ خون شناسی

ب-۵-۱ لکوسیت‌ها

فعال شدن لکوسیت‌ها را می‌توان با بررسی میکروسکوپی از سطح وسیله یا لکوسیت‌های فعال شده، استفاده از فلوسیتومتری برای ارزیابی افزایش لکوسیت‌های نشاندار مانند L-سلکتین و CD 11b و اختلالات کمی در جمعیت لنفوسیت‌ها تعیین کرد.

ب-۵-۲ همولیز

همولیز به عنوان یک آزمون غربالگری قابل توجه بدلیل بالا رفتن سطح هموگلوبین پلاسما در نظر گرفته می‌شود. اگر این آزمون به درستی انجام شود افزایش در میزان هموگلوبین پلاسما نشانه همولیز و همچنین نشان‌دهنده شکنندگی غشاء گلبول قرمز در اثر تماس با مواد و وسیله‌ها می‌باشد (به پیوست ج مراجعه کنید).

ب-۵-۳ شمارش رتیکولوسیت

افزایش تعداد رتیکولوسیت نشان دهنده افزایش تولید گلبول‌های قرمز در مغز استخوان می‌باشد. این وضعیت ممکن است پاسخ به کاهش توده گلبول‌های قرمز بدنبال از دست دادن مزمن خون (خون‌ریزی)، همولیز یا سایر مکانیسم‌ها باشد.

ب-۶ سیستم کمپلمان (CH 50 & C3a, C5a, TCC, Bb, iC3b, C4d, SC5b-9)

کاهش CH 50 شاخص مصرف کل کمپلمان است. افزایش میزان هر یک از اجزای کمپلمان نشان دهنده فعال شدن سیستم کمپلمان است. برخی مواد سبب فعال شدن کمپلمان می‌شوند و فعال شدن اجزای کمپلمان نیز سبب فعال شدن گلبول‌های سفید و نهایتاً موجب تجمع و بدام افتادن آنها در شش‌ها می‌گردد. اندازه‌گیری محصولات کمپلمان از نظر ویژگی گونه و افزایش میزان پایه زمانی که بعد از آزمون آزمایشگاهی برون‌تنی انجام شده باشد، دارای نقطه ضعف است. روش کلاسیک CH-50 بنظر می‌رسد که برای سرم انسان، گاو، خوک و خرگوش مفید باشد. یکی دیگر از روش‌های کاربردی اندازه‌گیری فعال شدن کمپلمان در شرایط آزمایشگاهی برون‌تنی، تولید C3- یا convertase-C5 است که توسط تبدیل سوبسترا تعیین می‌شود.
فعال سازی کمپلمان در استانداردهای ASTM F ۱۹۸۴-۹۹ و ASTM F ۲۰۶۵-۰۰ آورده شده است.

1- Thrombopoiesis

پیوست پ

(اطلاعاتی)

ارزیابی شاخص‌های همولیتیک وسایل پزشکی و اجزای آنها

پ-۱ ملاحظات عمومی

تحقیقات گسترده‌ای در رابطه با شرح برهم‌کنش‌های متقابل بین وسیله و خون موجود است. متاسفانه، روش‌های بسیار کمی قابل اعتماد و تجدید پذیر بوده و توانایی پیش‌بینی کارایی بالینی را نیز دارا هستند. در این پیوست روش‌های آزمون شناخته شده همولیز بررسی و در مورد عوامل مربوط به توانایی در مشخص کردن مواد و وسایل پزشکی و دندان پزشکی بحث خواهد شد.

پ-۲ اصطلاحات و تعاریف

در این قسمت از استاندارد اصطلاحات و تعاریف زیر به‌کار می‌رود:

پ-۲-۱

ضدانعقاد **(Anticoagulant)**

عاملی که از انعقاد خون جلوگیری کرده یا آن را به تاخیر می‌اندازد. مثال: هپارین یا سیترات

پ-۲-۲

فشار انکوتیک، فشار اسمزی کلوئیدی **(Oncotic pressure, colloidal osmotic pressure)**

مجموعه اثرات پروتئین‌ها یا مواد دیگر با جرم مولکولی بزرگ بر فعالیت اسمزی پلاسما هستند.

پ-۲-۳

هماتوکریت **(Haematocrit)**

نسبت حجم گلبول‌های قرمز به کل خون در نمونه معین است.

پ-۲-۴

همولیز **(Haemolysis)**

آزادی هموگلوبین از گلبول‌های قرمز که بدنبال تخریب یا آسیب نسبی غشاء سلول همراه است.

پ-۲-۵

مواد مرجع منفی **(Negative reference material)**

پلی اتیلن با دانسیته بالا یا جایگزین معتبر مشابه است.

یادآوری- به استاندارد ۱۲-۷۲۱۶ مراجعه کنید.

پ-۲-۶

گلبول‌های قرمز فشرده (پکسل) **(Packed erythrocytes)**

جزء به‌دست آمده توسط سانتریفوژ از یک واحد خون انسان بدنبال حذف پلاسمای سوپرناتانت است.

یادآوری- خواص گلبول‌های قرمز انسان برای تزریق: کسر حجمی گلبول قرمز به جزء ۰/۶۵ تا ۰/۸۰ است. واحد شامل تمام گلبول‌های قرمز واحد اصلی است که بخش اعظم آن لکوسیت‌ها (درحدود ۲/۵ تا $۳/۰\times۱۰^{۹}$ سلول) بوده و میزان پلاکت‌ها بسته به روش سانتریفوژ متفاوت است.

پ-۲-۷

شستشوی گلبول‌های قرمز **(Washed erythrocytes)**

عبارت از سوسپانسیون گلبول قرمز به دست آمده از خون بعد از برداشتن پلاسما و شستشو در محلول ایزوتونیک است.

یادآوری- این یک سوسپانسیونی از گلبول قرمز است که بخش بیشتر پلاسما، لکوسیت‌ها و پلاکت‌ها از آن حذف شده است. مقدار پلاسمای باقیمانده به روش شستشو بستگی دارد. زمان نگهداری پس از شستشو باید تا حد امکان کوتاه باشد و قطعاً بیش از ۲۴ ساعت در ۱ درجه سانتی گراد تا ۶ درجه سانتی گراد نشود.

پ-۲-۸

خون کامل **(Whole blood)**

خون تفکیک نشده، گرفته شده از یک دهنده انتخابی و حاوی سیترات یا هپارین به عنوان مواد ضد انعقاد است.

پ-۳ علل همولیز

پ-۳-۱ نیروهای مکانیکی – فشار

غشاء گلبول قرمز یک غشاء نیمه تراوا است. هنگامیکه دو محلول با غلظت‌های متفاوت توسط چنین غشایی از یکدیگر جدا می‌شوند یک اختلاف فشار در دو طرف غشاء اتفاق می‌افتد. فشار اسمزی زمانی نیز رخ می‌دهد که غشاء به انتقال غیر فعال املاح نفوذ ناپذیر باشد. این اختلاف فشار می‌تواند سبب تورم گلبول قرمز و پارگی غشاء همراه با رها شدن هموگلوبین آزاد شود.

پ-۳-۲ نیروهای مکانیکی - رئولوژی

عواملی که بر سرعت جریان خون تاثیر می‌گذارند، نیروهای برشی و نیروهای دیگری که می‌توانند باعث تغییر شکل غشاء گلبول قرمز و پارگی غشاء شوند.

پ-۳-۳ عوامل بیوشیمیایی

تغییرات در ساختار غشاء در سطح مولکولی می‌تواند قدرت و خواص الاستیک غشاء گلبول قرمز را تغییر دهد. کمبود عوامل تغذیه‌ای یا انرژی سوخت و ساز بدن (ATP) می‌تواند منجر به از دست دادن شکل قرصی مانند و

میکروویزیکوله شدن[1] هموگلوبین شود. مواد شیمیایی دیگر، سموم باکتریایی، pH و تغییرات سوخت و ساز بدن ناشی از درجه حرارت می‌توانند بر غشاء گلبول قرمز تاثیر بگذارند. این تغییرات کمتر از فشارهای اسمزی مورد انتظار می‌توانند باعث پارگی غشاء شوند. یک آزمون برای تعیین فشاری که در آن غشای گلبول قرمز پاره می‌شود (شکنندگی اسمزی) می‌تواند انجام شود.

پ-۴ اهمیت بالینی همولیز

پ-۴-۱ اثرات سمی

افزایش میزان هموگلوبین آزاد پلاسما می‌تواند منجر به القاء اثرات سمی یا آغاز فرآیندهای منجر به ایجاد استرس در کلیه و یا اندام‌های دیگر شود. غلظت هموگلوبین آزاد پلاسما یک سنجش مناسبی از آسیب وارد شده به گلبول‌های قرمز است، اما یک شاخص غیر مستقیم از آسیب به دیگر عناصر خون نیز هست.

پ-۴-۲ ترومبوز

همولیز داخل عروقی می‌تواند ترومبوز را با آزاد کردن فسفولیپیدها تقویت کند. هنگامی که همولیز باعث افت قابل توجه بالینی در تعداد گلبول قرمز، کم خونی و به خطر افتادن ظرفیت حمل اکسیژن شود اثرات بعدی را بر روی مغز و سایر اندام‌ها یا بافت‌ها می‌تواند باعث شود.

پ-۵ تعیین ارزیابی قبول/رد همولیز

همولیز تابعی از زمان و خصوصیات مواد مانند انرژی سطح[2]، مورفولوژی سطح[3] و شیمی سطح[4] است. همچنین همولیز تابعی از تنش برشی[5]، برهم‌کنش متقابل دیواره سلولی، خواص لایه‌های پروتئینی جذب شده، پایداری جریان، حباب‌های هوا، تغییرات منبع خون، سن و شیمی می‌باشد. لازم است که این متغیرها به اندازه کافی برای مقایسه پتانسیل همولیتیک در بین مواد و وسایل پزشکی کنترل شوند. طیف روش‌های ارزیابی همولیز از مدل‌های ساده تا مدل‌های بسیار پیچیده متفاوت است. مدل‌های خاص آزمایشگاهی برون‌تنی و درون‌تنی با جریان خون منتشر شده است. مطالعات پتانسیل همولیتیک بیشتر به جای اندازه‌گیری‌های مطلق بصورت مقایسه‌های نسبی مواد یا وسایل پزشکی در مدل مشابه توسط یک آزمایشگاه خاص می‌باشند. روش‌های آزمون آزمایشگاهی برون‌تنی می‌توانند مقادیر کم هموگلوبین پلاسما که ممکن است تحت شرایط درون‌تنی قابل سنجش نباشند را تعیین مقدار کنند (به عنوان مثال با توجه به اتصال هموگلوبین پلاسما به هاپتوگلوبین[6] و

1- Microvesiculation
2- Surface energy
3- Surface morphology
4- Surface chemistry
5- Shear stress
۶- Haptoglobin؛ یکی از پروتئین‌های موجود در پلاسما است که با پیوند شدن به هموگلوبین رها شده از گلبول قرمزهای موجب مهار خاصیت اکسیداتیو آنها می‌شود. این پروتئین در کبد تولید می‌شود.

حذف سریع از بدن). اندازه‌گیری لاکتات دهیدروژناز و هاپتوگلوبین، به عنوان شاخص‌های همولیز در آزمون درون‌تنی، همچنین باید در نظر گرفته شوند.

تعریف یک مقدار جامع برای مقادیر قابل قبول و غیر قابل قبول همولیز برای همه وسایل پزشکی و کاربردها امکان‌پذیر نیست. اثر وسیله بر همولیز می‌تواند بطور کوتاه مدت بعلت ترومای حاصل از فرایند جراحی پنهان شود. وسیله‌ای با توانایی ایجاد قابل توجه‌ای همولیز هنگامی قابل استفاده است که آن وسیله تنها درمان مفید در یک وضعیت تهدید کننده زندگی باشد. به طور مستقیم، ماده سازگار با خون غیرهمولیتیک است. در عمل، بسیاری از وسیله‌ها باعث ایجاد همولیز می‌شوند، اما منفعت بالینی آنها نسبت به خطر مرتبط با همولیز اهمیت بیشتری دارد. بنابراین زمانی که یک وسیله باعث همولیز می‌شود، مهم است تا مطمئن شوید که وسیله منفعت بالینی داشته باشد و همولیز در حد قابل قبول بالینی باشد. معیارهای قابل پذیرش باید بر اساس برخی از خطرات و ارزیابی منفعت وسیله توجیه شوند. سوالات زیر پیشنهاداتی را برای توسعه چنین ارزیابی مطرح می‌کنند:

۱) مدت زمانی که بیمار در معرض وسیله قرار می‌گیرد چقدر است؟

۲) مواد یا وسیله باعث ایجاد چه مقدار همولیز می‌شوند؟ آیا همولیز در تمام زمان مجاورت وسیله با بیمار ادامه می‌یابد؟ آیا همولیز بعد از برداشتن وسیله ادامه دارد؟

۳) خطرات نسبی و مزایای دیگر روش‌های موجود برای درمان شرایط چه هستند؟

۴) شاخص‌های همولیتیک این قبیل درمان‌های شناخته شده چیست؟ وسیله در مقایسه با درمان‌های دیگر چگونه است؟

۵) وسیله مورد آزمون در مقایسه با انواع دیگر درمان‌ها تا چه حد مؤثر است؟ یک وسیله با اثربخشی بیشتر می‌تواند همولیز بیشتری را در طول استفاده سبب شود اما اثربخشی‌های دیگر نیز ممکن است به نفع بیمار باشند.

پ-۶ آزمون همولیز- ملاحظات عمومی

پ-۶-۱ روش‌ها

پ-۶-۱-۱ کلیات

آزمون‌های آزمایشگاهی برون‌تنی برای ارزیابی آسیب به گلبول‌های قرمز استفاده می‌شود. روش‌های مستقیم، همولیز را بر اساس برهم‌کنش‌های فیزیکی و شیمیایی با گلبول‌های قرمز تعیین می‌کنند. روش‌های غیر مستقیم نیز برای تعیین همولیز با توجه به آزمون‌های مستخرج از مقالات وجود دارند. استاندارد ASTM F ۷۵۶-۰۰ بطور اختصاصی برای آزمون شاخص‌های همولیتیک مواد (عمدتاً به دلیل عوامل شیمیایی) است و برای آزمون کلی وسایل پزشکی کافی نیست. این استاندارد (و لیست آزمون همولیز در GB/T ۱۶۱۷۵-۱۹۹۶) یک مثال و نقطه شروع ممکنی برای توسعه یک پروتکل برای آزمون همولیز یک وسیله خاص است. علاوه بر آزمون مواد

وسایل، آزمون خواص دینامیکی کل وسایل پزشکی برای ارزیابی اثرات ساختار، کاربرد در نظر گرفته شده، و عوامل همودینامیک باید در نظر گرفته شود.

در ساده‌ترین شکل، برای سوسپانسیون‌های بسیار رقیق گلبول‌های قرمز در تماس با مواد آزمون، همولیز اغلب به صورت درصدی از هموگلوبینی که به داخل محلول رویی (سوپرناتانت) رها می‌شود نسبت به کل هموگلوبین آزاد و قابل دسترس در آغاز آزمون گزارش می‌شود [به‌عنوان مثال (غلظت هموگلوبین آزاد/کل غلظت هموگلوبین) × ۱۰۰٪]. اگر همه گلبول‌های قرمز موجود در آغاز آزمایش از بین بروند، همولیز ۱۰۰٪ است. برای آزمون تجهیزات پزشکی، که در آن استفاده از سوسپانسیون‌های بسیار رقیق گلبول قرمز امکان‌پذیر نیست، هماتوکریت خون و عوامل دیگر باید برای نرمال سازی شاخص همولیز در نظر گرفته شود.

هر آزمایشگاه بطور حداقل باید قادر به اندازه‌گیری غلظت کل هموگلوبین خون و پلاسما و یا غلظت هموگلوبین محلول رویی باشد. غلظت هموگلوبین در پلاسما به طور قابل توجهی کمتر از غلظت کل هموگلوبین خون است. در شرایط درون‌تنی غلظت هموگلوبین آزاد پلاسما به طور معمول از ۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تا ۱۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است، در حالی که محدوده طبیعی غلظت کل هموگلوبین خون از ۱۱۰۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تا ۱۸۰۰۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر است. به همین دلیل، روش‌های مختلفی برای اندازه‌گیری محدوده وسیعی از غلظت‌های هموگلوبین در حین آزمون همولیز استفاده شده است.

سه روش آزمایشگاهی قابل قبول برای تعیین غلظت هموگلوبین خون استفاده شده است.

یادآوری- محققان باید توجه کنند که آزمون‌های همولیز ممکن است تحت تاثیر مواد شیمیایی موجود در مواد پزشکی و یا محلول‌هایی که ممکن است شکنندگی[1] گلبول قرمز را تغییر دهند (به‌عنوان مثال تثبیت کننده‌هایی نظیر فرمالدئید و یا گلوتارآلدئید) قرار گرفته که اینها می‌توانند باعث رسوب هموگلوبین (مثلاً توسط یونهای مس یا روی)، یا تغییر در طیف جذبی هموگلوبین (مثلاً توسط پلی اتیلن گلیکول یا اتانول) شوند.

پ-۶-۱-۲ اندازه‌گیری‌های غلظت کل هموگلوبین خون

پ-۶-۱-۲-۱ روش سیان‌مت هموگلوبین[2]

اولین روش کلاسیک، تشخیص سیان‌مت هموگلوبین، توسط کمیته بین المللی استاندارد هماتولوژی صادر شد. آنالیز سیان‌مت هموگلوبین (هموگلوبین سیانید؛ HiCN) دارای مزیت آسان بودن، سهولت اتوماسیون، و در دسترس بودن استاندارد مرجع اولیه (HiCN) است. این روش بر اساس اکسیداسیون هموگلوبین و پس از آن تشکیل سیان‌مت هموگلوبین است که جذب گسترده‌ای در طول موج حداکثر ۵۴۰ نانومتر دارد. عوامل لیز کننده مانند دترژنتها علاوه بر آزاد کردن هموگلوبین از گلبول قرمز، باعث کاهش کدورت (عامل تداخل جذب به عنوان جذب نادرست در طول موج ۵۴۰ نانومتر) ناشی از رسوب پروتئین می‌شوند. برای غلظت کل هموگلوبین، تداخل طیفی مربوط به پلاسما حداقل است و جذب نمونه را می‌توان مستقیماً با محلول استاندارد HiCN مقایسه کرد.

1- Fragility

2- Cyanmethaemoglobin method

به علت باند جذب گسترده HiCN در این ناحیه می‌توان از فتومترهایی با فیلتر ساده و همچنین اسپکتروفتومترهای باند باریک برای تشخیص دستی یا تشخیص خودکار استفاده کرد. استفاده از استاندارد مرجع HiCN امکان مقایسه در بین تمام آزمایشگاه‌هایی که این روش را به کارمی‌برند فراهم می‌کند. نقطه ضعف عمده این روش خطر سلامتی بالقوه در استفاده از محلول‌های سیانید است. معرف‌های سیانو خود از راه‌های مختلف در معرض قرار گرفتن سمی هستند و علاوه بر این، به محض اسیدی شدن سیانید هیدروژن (HCN) آزاد می‌کنند. دفع معرف‌ها و محصولات نیز تبدیل به یک نگرانی قابل توجه و هزینه‌بر شده است.

پ-۶-۱-۲-۲ روش اکسی‌هموگلوبین[1]

امروزه، روش کلاسیک دوم برای تعیین غلظت کل هموگلوبین به طور گسترده کاربرد ندارد. روش اکسی‌هموگلوبین بستگی به تشکیل HbO_2 در طول تیمار با هیدروکسیدآمونیوم، و تشخیص اسپکتروفتومتری این محصول بستگی دارد. تعیین کمی اکسی‌هموگلوبین در محلول رقیق کربنات سدیم نیز استفاده می‌شود. آماده‌سازی ماده مرجع پایدار قابل دسترس نبوده اما این مهم نیست زیرا همه آنچه که در روش مورد نیاز است اندازه‌گیری درصد هموگلوبین کل در نمونه اصلی که در پلاسما موجود است، می‌باشد. در هر صورت، یک استاندارد بطور کوتاه مدت می‌تواند از یک نمونه خون تازه آماده شود.

پ-۶-۱-۲-۳ روش آهن

روش کلاسیک سوم برای تعیین غلظت کل هموگلوبین بر اساس تعیین غلظت آهن هموگلوبین در محلول است. آهن ابتدا از هموگلوبین، معمولاً به وسیله اسید یا با خاکستر کردن جدا می‌گردد. پس از آن توسط کلرید تیتانیوم ($TiCl_3$) یا تشکیل کمپلکس با یک معرف برای ایجاد رنگ که می‌تواند از طریق اسپکترفتومتر اندازه‌گیری شود، تیتر می‌شود. این روش کار برای کارهای معمول بیش از حد پیچیده است، و به ندرت استفاده می‌شود.

پ-۶-۱-۳ اندازه‌گیری‌های غلظت هموگلوبین پلاسما یا محلول رویی

پ-۶-۱-۳-۱ تکنیک‌های مستقیم نوری و دیگر تکنیک‌های مبتنی بر افزودن مواد شیمیایی

با توجه به بسیاری از عوامل مختلف (به عنوان مثال متداول بودن، سهولت استفاده، دفع مواد شیمیایی زائد، در دسترس بودن محلول‌های استاندارد) در حال حاضر حدود بیست سنجش مختلف برای اندازه‌گیری هموگلوبین پلاسما به عنوان شاخص همولیز استفاده می‌شود اما هیچ کدام از آنها به طور گسترده پذیرفته نشده‌اند. سنجش‌ها را می‌توان به دو گروه گسترده طبقه بندی کرد: روش‌هایی که بر اساس تکنیک‌های مستقیم نوری (به‌عنوان مثال براساس تعیین مقدار جذب شاخص اکسی هموگلوبین در طول موج‌های ۴۱۵، ۵۴۱ یا ۵۷۷ نانومتر، به طور مستقیم و یا از طریق استفاده از مشتقات اسپکتروفتومتری) و روش‌هایی که بر اساس افزودن مواد شیمیایی (به‌عنوان مثال تعیین مقدار هموگلوبین بر اساس یک واکنش شیمیایی با معرف‌هایی مانند

1- Oxyhaemoglobin method

کروموژن‌های نظیر بنزیدین و پراکسیدهیدروژن، و یا تشکیل سیان‌مت هموگلوبین) هستند. همه سنجش‌ها می‌توانند به صورت دستی و بطور دستگاهی انجام شوند.

یک روش متداول برای تعیین غلظت هموگلوبین بر اساس اثر کاتالیتیک آن در اکسیداسیون مشتق بنزیدین، مانند تترامتیل‌بنزیدین، توسط پراکسیدهیدروژن است. سرعت تشکیل یک محصول رنگی (تشخیص توسط اسپکتروفوتومتر در طول موج ۶۰۰ نانومتر) مستقیماً با غلظت هموگلوبین متناسب است. مزایای استفاده از این روش سهولت اتوماسیون (تجهیزات تجاری)، حذف بالقوه معرف‌های سیانوری سمی و مضر برای محیط زیست، و در دسترس بودن مجموعه استاندارد هموگلوبین است که در مقابل استانداردهای مرجع اولیه HiCN کالیبره می‌گردد. حد تشخیص این سنجش (کمتر از ۵/۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) با روش هموگلوبین سیانید قابل مقایسه است. از معایب اصلی این روش می‌توان به خطر بالقوه استفاده از رنگ‌های بنزیدین برای سلامتی و هزینه‌های مرتبط با دفع معرف‌ها و محصولات اشاره کرد. علاوه بر این، محدوده متغیر این روش پایین (۵ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر تا ۵۰ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) گزارش شده و احتمال مهار واکنش (به اندازه ۴۰٪) ممکن است بعلت ضدانعقادهای شلاته‌کننده کلسیم (نظیر: سیترات‌ها، اگزالات‌ها، EDTA)، آلبومین، یا دیگر اجزای غیر اختصاصی پلاسما که ممکن است با اکسیداسیون پراکسیدهیدروژن تداخل داشته باشند، رخ دهد.

به این دلایل، روش‌های مستقیم نوری، مانند روش‌های هارب[1]، کریپس[2] یا تولیر[3] با حساسیت و تکرارپذیری قابل مقایسه ممکن است جایگزین شوند. با این حال، همانطور که در بالا اشاره شد، بواسطه مواد شیمیایی تغییراتی در هموگلوبین و طیف آن می‌تواند رخ دهد که ممکن است منجر به اختلال در برخی از سنجش‌های هموگلوبین شوند. علاوه بر این، تداخل پلاسمای پس زمینه در تغییر طیف‌های هموگلوبین را نیز باید در نظر گرفت. محقق باید از محدودیت‌های سنجش‌های هموگلوبین پلاسما آگاه باشد و معلوم باشد که از روشی کاملاً مناسب استفاده می‌کند. این مساله شامل ارزیابی آزمون محلول رویی برای حضور رسوب و مقایسه طیف‌های نوری آن (به عنوان مثال ۴۰۰ نانومتر تا ۷۰۰ نانومتر) با اکسی هموگلوبین جدا شده می‌باشد.

پ-۶-۱-۳-۲ روش ایمونونفلومتری[4]

روش ایمونونفلومتری بر اساس تعیین هموگلوبین پلاسما با استفاده از نفلومتری (کدورت‌سنجی) و آنتی بادی تجاری قابل دسترس است. این روش برای آزمون‌های روزمره کاربرد داشته و نتایج حاصل از آن قابل مقایسه با روش‌های نوری می‌باشد.

1- Harboe
2- Cripps
3- Taulier
4- Immunonephelometric method

پ-۶-۲ نگهداری خون و اجزاء آن

این بند بهترین شیوه نگهداری اجزای خون انسان را که توسط انجمن آمریکایی بانک خون و شورای اروپا تهیه شده است، ارائه می‌کند. به طور کلی، مواد و وسیله‌ها باید با استفاده از خونی که شرایط شیمیایی آن مشابه شرایط بالینی وسیله است، مورد آزمون قرار بگیرند (به عنوان مثال انتخاب مناسب ضد انعقاد، حداقل استفاده از مواد نگهدارنده خون و pH مناسب خون).

محلول‌های ضد انعقاد که در جمع‌آوری خون بکار می‌روند از انعقاد خون جلوگیری کرده و اجازه نگهداری گلبول‌های قرمز را برای یک محدوده معینی از زمان می‌دهند. این محلول‌ها همگی دارای سیترات سدیم، اسید سیتریک، و گلوکز هستند؛ علاوه بر این، برخی از آنها نیز دارای آدنین، گوانوزین، مانیتول، سوکروز، سوربیتول و یا فسفات می‌باشند. اگرچه هپارین برای نگهداری خون استفاده نمی‌شود، اغلب بعنوان ضد انعقاد در شرایط بالینی برای بیمارانی استفاده می‌شود که در معرض وسایل پزشکی قرار می‌گیرند.

لخته شدن خون توسط اتصال سیترات به کلسیم مهار می‌شود. گلبول‌های قرمز در طول مدت نگهداری گلوکز را متابولیزه می‌کنند. دو مولکول آدنوزین‌تری‌فسفات (ATP) بر اساس فسفوریلاسیون آدنوزین‌دی‌فسفات (ADP) برای هر مولکول گلوکز متابولیزه شده از طریق مسیر گلیکولیز بی‌هوازی امبدون-میرهوف[1] تولید می‌گردد. مولکول‌های ATP انرژی مورد نیاز گلبول قرمز را برای حفظ انعطاف پذیری غشاء و نقل و انتقالات خاص غشایی فراهم می‌کنند. در اثر تبدیل ATP به ADP انرژی لازم برای انجام این اعمال فراهم می‌شود. به منظور افزایش زمان نگهداری، شرایط قلیایی باید با افزودن اسید سیتریک به محلول ضد انعقاد کاهش یابد. این مساله باعث ایجاد غلظت مناسب بالایی از یون هیدروژن در آغاز نگهداری گلبول قرمز در ۴ درجه سانتی‌گراد می‌شود. افزایش اسیدیته نیز در طول مدت نگهداری سرعت گلیکولیز را کاهش می‌دهد. نوکلئوتیدهای آدنوزین (ATP، ADP، AMP) در حین نگهداری تمام شده و افزودن آدنوزین به محلول ضد انعقاد باعث سنتز مجدد AMP، ADP، ATP می‌شود.

هنگامی که کنسانتره گلبول قرمز (گلبول قرمز فشرده یا متراکم) آماده می‌شود بخش قابل توجهی از قند و آدنین به‌همراه پلاسما حذف می‌شود. پس از حذف پلاسما اگر سلول‌ها بیش از حد کنسانتره نباشند، گلبول‌های قرمز زنده به مقدار کافی باقی می‌مانند. بطور معمول در کنسانتره گلبول قرمز حاوی سیترات فسفات دکستروز-آدنین[2] حجم بخش گلبول قرمز نباید بیشتر از ۰/۸ باشد. حتی اگر بیش از ۹۰ درصد از پلاسما حذف شده باشد، زنده‌مانی اریتروسیت را می‌توان با افزودن یک محیط معلق یا یک افزودنی حفظ کرد. کلرید سدیم، آدنین و گلوکز برای زنده ماندن گلبولهای قرمز لازم هستند در حالی که مانیتول و یا سوکروز برای پایداری بیشتر غشای سلولی و جلوگیری از همولیز می‌توانند بکار برده شوند.

مناسب بودن ظروف نگهداری فرآورده‌های خون از طریق روش‌های مختلفی که کیفیت فرآورده خون را اندازه گیری می‌کنند، مورد بررسی قرار می‌گیرد. ظروف حاوی فرآورده‌های خون بهمراه ماده ضد انعقاد مناسب

1- Embden-Myerhoff

2- citrate phosphate dextrose (CPD)-adenine

می‌توانند در دمای بین ۱ درجه سانتی‌گراد تا ۶ درجه سانتی‌گراد تحت شرایط پایدار نگهداری شوند. در فواصل زمانی از پیش تعیین شده، مقدار هموگلوبین پلاسمای بدون سلول برای ارزیابی زنده‌مانی و کیفیت فرآورده ذخیره شده، اندازه‌گیری می‌شود. کیفیت فرآورده ذخیره شده را می‌توان با مخلوط کردن ملایم یک بار در هفته ظروف حاوی فرآورده‌های خون افزایش داد. ارزیابی نگهداری ظرف بطور غیر مستقیم نفوذپذیری ظرف را نسبت به دفع دی اکسید کربن ناشی از سوخت و ساز گلبول قرمز، در غیاب دیگر عوامل مداخله‌گر نشان می‌دهد.

پ-۶-۳ حفاظت از کارکنان در معرض خون

وجود دستورالعمل‌هایی برای حفاظت از کارکنان در برابر دریافت، حمل و نقل و کار با خون آلوده انسان ضروری است. مواد بالقوه آلوده شامل: خون، دیگر ترشحات بدن و فرآورده‌های خونی، تجهیزاتی که در تماس با خون یا دیگر مایعات بدن بوده و یا ممکن است باشند، و مواد مورد استفاده در کشت ارگانیسم‌هایی که باعث انتقال عفونت از راه خون می‌شوند، می‌باشند.

پ-۶-۴ خون‌گیری (فلبوتومی[1])

زمانیکه امکان سترون نمودن کامل (۱۰۰ درصد) سطح پوست برای فلبوتومی وجود ندارد، یک روش قاطع و استاندارد برای آماده‌سازی منطقه فلبوتومی باید وجود داشته باشد. این امر اهمیت ویژه‌ای دارد چراکه اجازه می‌دهد محلول ضدعفونی‌کننده قبل از استفاده از خون وریدی[2] بر روی سطح پوست خشک شود و هیچ تماس بیشتری با سطح پوست قبل از وارد شدن سوزن فلبوتومی نداشته باشد.

سیستم ظروف در بسته (یعنی مدل‌هایی که فاقد هوای اتاق باشند) برای خون‌گیری و پیشگیری از آلودگی میکروبی ترجیح داده می‌شود. سوراخ سوزن در درپوش پلاستیکی ویال نمونه باید به طور کامل پس از خروج سوزن بسته باشد، در غیر این صورت خلاء نسبی ایجاد شده بدنبال خنک کردن می‌تواند در هوای آلوده وارد شود.

یادآوری- استفاده از یک لوله خلاء پتانسیل ایجاد همولیز خفیف را دارد.

خون جمع آوری شده در یک سیستم باز می‌تواند با قرار گرفتن در معرض هوای اتاق، آلوده شده و استریل تلقی نمی شود. آلودگی میکروبی یک علت شناخته شده همولیز است.

پ-۶-۵ انتخاب گونه

در حالت ایده‌آل، آزمون همولیز باید با گلبول‌های قرمز انسانی انجام شود. با این حال، چندین عامل می‌تواند چنین انتخابی را دشوار یا غیر ممکن سازد. در برخی از کشورها، ذخایر خون انسانی محدود بوده و این ذخایر باید برای مصارف انتقال خون حفظ شوند. معیارهای بهداشتی برای اهداءکنندگان انسان و حیوان نیز باید در نظر گرفته شود. تمام نمونه‌های خون نیمه عمر محدودی دارند و تهیه سلول‌های خون انسان بر اساس زمان

1- Phlebotomy
2- venipuncture

ممکن است مشکل باشد. اگر از گلبول‌های قرمز حیوانات استفاده می‌شود، باید توجه شود که همولیز بطور ۱۰۰٪ برای به دست آوردن محتوای کل هموگلوبین انجام می‌شود که این مساله به علت تفاوت پایداری غشاء گلبول‌های قرمز در میان گونه‌های جانوری است. کنترل‌های منفی باید منجر به حداقل همولیز شوند به طوری که فعالیت مواد آزمون پنهان نشود. گلبول‌های قرمز خرگوش و انسان گزارش شده که خصوصیات همولیتیک مشابهی دارند در حالیکه گلبول‌های قرمز میمون حساس‌تر و گلبول‌های قرمز خوکچه هندی حساسیت کمتری نسبت به همولیز دارند.

پ-۶-۶ بررسی همولیز- مواجهه با خون یا اجزاء خون در شرایط درون‌تنی، برون‌تنی و اِکس‌ویوو

همولیز می‌تواند با در معرض قرار گرفتن مواد یا وسایل تحت شرایط درون‌تنی، برون‌تنی و اِکس‌ویوو ارزیابی شود. شرایط برون‌تنی برای ارزیابی مواد و همچنین وسایل استفاده می‌شود. شرایط اِکس‌ویوو و درون‌تنی نیز برای ارزیابی وسایلی که ممکن است بیش از یک ماده داشته باشند، بکار می‌رود.

ارزیابی‌های اِکس‌ویوو و درون‌تنی در مدل‌های حیوانی یا در حین انجام آزمایش‌های بالینی امکان‌پذیر است. توجیه در مورد هر کدام از طرح‌های مطالعه می‌تواند صورت گیرد. در مورد اول، آزمون وسیله با وسیله‌های کنترل مرجعی که در بازار عرضه می‌شوند و میزان مشخص و قابل قبولی همولیز ایجاد می‌کنند، مقایسه می‌شود. در مورد دوم، موضوع آزمون برای پی بردن به عواقب قابل توجه بالینی همولیز ارزیابی می‌شود.

هدف از آزمون‌های اِکس‌ویوو یا درون‌تنی مشخص کردن قدرت همولیتیک یک وسیله پزشکی است. مطالعات اولیه ممکن است در شرایط برون‌تنی انجام شود و ممکن است از خون تازه و یا تاریخ گذشته انسان و یا از یک گونه غیرانسان استفاده شود. برای وسایل پزشکی در شرایط اِکس‌ویوو، عملکرد عمده برقرار شدن دوباره جریان خون از طریق وسیله و استفاده از شرایطی است که کاربرد بالینی در نظر گرفته شده وسیله را شبیه‌سازی کند. این تحقیقات با شبیه‌سازی شرایط اِکس‌ویوو در یک مدل حیوانی یا تعدادی محدوی از مطالعات کنترل شده در انسان برای برخی از وسایل پزشکی دنبال می‌شود. اندازه وسیله پزشکی و عملکرد در نظر گرفته شده آن، بر طراحی این مطالعات تاثیر دارد.

پ-۶-۷ تماس مستقیم در مقابل روش‌های غیرمستقیم

شرایط استخراج مواد از وسیله برای انجام آزمون در استاندارد ملی شماره ۱۲-۷۲۱۶ خلاصه شده است. برخی از روش‌های آزمون بر اساس تماس مستقیم وسیله با گلبول‌های قرمز، در حالی که روش‌های دیگر بر اساس استخراج از وسیله و سپس مجاورت ماده استخراج شده با گلبول‌های قرمز توصیف شده‌اند. انتخاب آزمون باید بر اساس خود وسیله و شرایطی که از آن استفاده خواهد شد، صورت گیرد. زمان استفاده از درجه حرارت بالا، شرایط مرزی در نظر گرفته می‌شود که در استاندارد ملی شماره ۱۲-۷۲۱۶ خلاصه شده است.

پیوست ت
(اطلاعاتی)

کتاب‌نامه

۱- استانداردهای بین المللی

[1] ISO 5840:1996, *Cardiovascular implants — Cardiac valve prostheses*
[2] ISO 5841-1, *Cardiac pacemakers — Part 1: Implantable pacemakers*
[3] ISO 5841-3, *Implants for surgery — Cardiac pacemakers — Part 3: Low-profile connectors (IS-1) for implantable pacemakers*
[4] ISO 7198, *Cardiovascular implants — Tubular vascular prostheses*
[5] ISO 7199, *Cardiovascular implants and artificial organs — Blood-gas exchangers (oxygenators)*
[6] ISO 10993-12, *Biological evaluation of medical devices — Part 12: Sample preparation and reference materials*
[7] ISO 3826, *Plastics collapsible containers for human blood and blood components*

۲- استانداردهای ملی

[8] AANSI/AAMI CVP3-1981, *Cardiac valve prostheses*
[9] ANSI/AAMI VP20-1986, *Vascular graft prostheses*
[10] ASTM F 756-00, *Standard practice for assessment of hemolytic properties of materials*
[11] GB/T 16175-1996 *Organic silicone material material for medical use — Biological evaluation test methods*
[12] BS 5736-11:1990, *Evaluation of medical devices for biological hazards — Part 11: Method of test for haemolysis*
[13] ASTM F1984-99, *Standard Practice for Testing for Whole Complement Activation in Serum by Solid Materials*
[14] ASTM F2065-00, *Standard Practice for Testing for Alternative Pathway Complement Activation in Serum by Solid Materials*
[15] DIN 58 361-4:1980, *Transfusionsbehلtnisse und Zubehr, Blutbeutel aus Kunststoffen, Sicherheitstechnische Anforderungen, Prüfung, Uberwachung und Kennzeichnung*
[16] NF 90-300:1981, *Matériel médico-chirurgical — Oxygénateurs*

۳- مقالات علمی

[17] BOSCH, T., SCHMIDT, B., BLUMENSTEIN, M. and GURLAND, H.J., Thrombogenicity markers in clinical and ex vivo assessment of membrane biocompatibility. *Contr. Nephrol*., **59**, 1987, pp. 90-98

[18] CHENOWETH, D.E., Complement activation produced by biomaterials. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, 32: 226-232, 1986
[19] BURNS, G.L. PANTALOS, G.M. and OLSEN, D.B., The calf as a model for thromboembolic events with the total artificial heart. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **33**, 1987, pp. 398-403
[20] COOPER, S.L., FABRIZIUS, D.J. and GRASEL, T.G., Methods of assessment of thrombosis ex vivo. In: Leonard E.F., Turitto V.T., and Vroman L.(Eds): Blood in contact with natural and artificial surfaces. *Ann. N.Y. Acad.*
Sci., **516**, 1987, pp. 572-585
[21] CORRIVEAU, D.M. and FRITSMA, G.A. (Eds): *Hemostasis and thrombosis in the clinical laboratory*. J.B. Lippincott, Philadelphia, 1988, p. 443
[22] DAWIDS, S. (Ed): *Test procedures for the blood compatibility of biomaterials*. Kluwer, Dordrecht, Boston, 1993, p. 684
[23] DEWANJEE, M.K., Methods of assessment of thrombosis in vivo, In: Leonard E.F., Turitto V.T. and Vroman L. (Eds): Blood in contact with natural and artificial surfaces. *Ann. N.Y. Acad. Sci*., **516**, 1987, pp. 541-571
[24] DEWANJEE, M.K., KAPADVANJWALA, M. and SANCHEZ, A., Quantitation of comparative thrombogenicity of dog, pig, and human platelets in a hemodialyser. *Amer. Soc. Artif. Int. Organs J*., **38**, 1992, pp. 88-90
[25] DIDISHEIM, P., DEWANJEE, M.K., FRISK, C.S., KAYE, M.P. and FASS, D.N., Animal models for predicting clinical performance of biomaterials for cardiovascular use. In: Boretos J.W. and Eden M. (Eds). *Contemporary Biomaterials*, Noyes Publications, Park Ridge, NJ, USA, 1984, pp. 132-179
[26] DIDISHEIM, P., DEWANJEE, M.K., KAYE, M.P., FRISK, C.S., FASS, D.N., TIRRELL, M.V. and ZOLLMAN, P.E., Nonpredictability of long-term in vivo response from short-term in vitro or ex vivo blood/material interactions. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **30**, 1984, pp. 370-376
[27] DIDISHEIM, P., OLSEN, D.B., FARRAR, D.J., PORTNER, P.M., GRIFFITH, B.P., PENNINGTON, D.G., JOIST, J.H., SCHOEN, J.F., GRISTINA, A.G. and ANDERSON, J.M., Infections and thromboembolism with implantable cardiovascular devices. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **35**, 1989, pp. 54-70
[28] DIDISHEIM, P., STROPP, J.Q., BOROWICK, J.H. and GRABOWSKI, E.F., Species differences in platelet adhesion to biomaterials: investigation by a two-stage technique, *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **2**, 1979, pp. 124-132
[29] Guidelines for blood/material interactions. Report of the National Heart, Lung and Blood Institute Working Group, U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, National Institutes of Health. NIH Publication No. 85-2185, revised September 1985. Available from Biomaterials Program, Bioengineering Research Group, Division of Heart and Vascular Diseases, NHLBI, Two Rockledge Center, 6701 Rockledge Drive, Bethesda, MD 20892, USA
[30] HARKER, L.A., KELLY, A.B. and HANSON, S.R., Experimental arterial thrombosis in non-human primates. *Circulation*, **83**, Supplement IV, 1991, pp. 41-55

[31] HARKER, L.A., MALPASS, T.W., BRANSON, H.E., HESSEL, E.A. II and SLICHTER, S.J., Mechanism of abnormal bleeding in patients undergoing cardiopulmonary bypass: Acquired transient platelet dysfunction associated with selective alpha granule release. *Blood*, **56**, 1980, pp. 824-834

[32] HARKER, L.A., RATNER, B.D., and DIDISHEIM, P. (Eds): Cardiovascular Biomaterials and Biocompatibility. Supplement to *Cardiovasc. Pathol*., **2**(3) (Suppl.), Jul-Sept 1993, pp. 1S-224S

[33] KARWATH, R., SCHURER, M. and WOLF, H., Measurement of platelet adhesiveness onto artificial surfaces using Cr-51 and In-111 labelled platelets. *Studia Biophys*., **131**, 1989, pp. 117-123

[34] KATAOKA, K., MAEDA, M., NISHIMURA, T., NITADORI, TSURUTA, T., AKAIKE, T., and SAKURAI, Y., Estimation of cell adhesion on polymer surfaces with the use of "column method". *J. Biomed. Mater. Res*., **14**, 1980, pp. 817-823

[35] KAY, L.A., *Essentials of Haemostasis and Thrombosis*. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1988, pp. 290

[36] LEWIS, J.L., SWEENEY, J., BALDINI, L., FRIEDLAND, G.H., and SALZMAN, E.W., Assessment of thromboresistance of intravenous cannulae by 125 I-fibrinogen scanning. *J. Biomed. Mater. Res*., **19**, 1985, p. 99

[37] MAHIOUT, A., MEINHOLD, H., JORRES, A., KRIEG, R., KESSEL., M., TRETZEL, J. and BAURMEISTER, U., Ex vivo model for preclinical evaluation of dialysers containing new membranes. *Life Support Systems*, **3**, Suppl. 1, 1985, pp. 448-452

[38] MIALE, J.B., *Laboratory medicine hematology*. Sixth edition, CV Mosby, St. Louis, 1982

[39] PALATIANOS, G.M., DEWANJEE, M.K., and ROBINSON, R.P., et al. Quantification of platelet loss with Indium-111 labelled platelets in a hollow-fiber membrane oxygenator and arterial filter during extracorporeal circulation in a pig model. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **35**, 1989, pp. 667-670

[40] SCHOEN, F.J., ANDERSON, J.M., DIDISHEIM, P., DOBBINS, J.J., GRISTINA, A.G., HARASAKI, H., and SIMMONS, R.L., Ventricular assist device (VAD) pathology analyses: guidelines for clinical studies. *J. Appl. Mater*., **1**, 1990, pp. 49-56

[41] SCHOEN, F.J., *Interventional and surgical cardiovascular pathology*. Appendix: Pathologic analysis of the cardiovascular system and prosthetic devices, W.B. Saunders Co., Phildelphia, 1989, pp. 369-396

[42] ROSENGART, T.K., LANG, S.J., Valvular Heart Disease. In: Barrie, P.S., Shires, G.T., *Surgical Intensive Care*, Little, Brown and Company, Boston, 1993, pp. 577-612

[43] ANDERSON, J.M., Cardiovascular Device Retrieval and Evaluation. In: Harker, L.A., Ratner, B.D., Didisheim, P. (Eds): Cardiovascular Biomaterials and Biocompatibility. Supplement to *Cardiovasc. Pathol*., **2**, (3)(Suppl.), Jul-Sept 1993, pp. 199S-208S

[44] SPENCER, P.C., SCHMIDT, B., SAMTLEBEN, W., BOSCH, T. and GURLAND, H.J., Ex vivo model of hemodialysis membrane biocompatibility. *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs*, **31**, 1985, pp. 495-498

[45] *Tripartite Biocompatibility Guidance for Medical Devices*. Prepared by toxicology sub-group of the Tripartite Subcommittee on medical devices, September 1986
[46] WARD, R.A., SCHMIDT, B., BLUMENSTEIN, M., and GURLAND, H.J. Evaluation of phagocytic cell function in an ex vivo model of hemodialysis. *Kidney International*, **37**, 1990, pp. 776-782
[47] WHITE, R.A., Diagnosis and therapy of emergent vascular diseases. In: Shoemaker, W.C., Ayres, S., Holbrook, P.R., and Thompson, W.L., *Textbook of Critical Care*, 2nd edn. W.B. Saunders, Philadelphia,
1989, pp. 447-452
[48] ZINGG, W., IP, W.F., SEFTON, M.V., and MANCER, K., A chronic arteriovenous shunt for the testing of biomaterials and devices in dogs. *Life Support Systems*, **4**, 1986, pp. 221-229
[49] World Health Organization, *Recommended methods for the visual determination of white cells and platelet counts*. Document WHO/LAB/88.3, 1988
[50] ICH: *Note for Guidance on Validation of Analytical Procedures: Methodology* (CPMP/ICH/281/95) and *Note for Guidance on Validation of Analytical Methods: Definitions and Terminology* (CPMP/ICH/381/95), The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products
[51] GROTEMEYER, K.-H., VIAND, R., BEYKIRCH, K. Thrombozytenfunktion bei vasomotorischen. Kopfschmerzen und Migrںnekopfschmerzen. *Dtsch. Med. Wschr*., **108**, 1983, pp. 775-778
[52] WU, K.K., HOAK, J.C. A new method for the quantitative detection of platelet aggregates in patients with arterial insufficiency. *Lancet*, 1974 II, p. 924
[53] KUNICKI, T.J., TUCELLI, M., BECKER, G.A., ASTER, R.H., A study of variables affecting the quality of platelets stored at room temperature. *Transfusion*, **15**, 1975, pp. 414-421
[54] CHANDLER, A.B., In Vitro thrombotic coagulation of the blood: a method for producing a thrombus. *Lab. Investigations*, **7**, 1958, pp. 110-114
[55] GOODMAN, S.L., LELAH, M.D., LAMBRECHT, L.K., COOPER, S.L., ALBRECHT, R.M., In vitro vs. Ex vivo Platelet Deposition on Polymer Surfaces. *Scanning Electron Microscopy*, **I**, 1984, pp. 279-290
[56] GOODMAN, S.L., COOPER, S.L., ALBRECHT, R.M., Activation of Platelets from Humans, Canines, and Macaques on Polymer Surfaces. *Progress in Artificial Organs*, ISAO Press, 1985
[57] ICSH Panel on Diagnostic Application of Radionuclides. Recommended method for ^{111}Indium Platelet survival studies. *J. Nuclear Med*., **29**, 1988, pp. 564-566
[58] NCCLS and ICSH. *Methods for reticulocyte counting (Flow cytometry and supravital dyes)*, approved guideline. NCCLS document H44-A. Vol. **17**, No. 15, 1997
[59] LEWIS, S.M., ROWAN, R.M., KUBOTA, F., Evaluation of a prototype for a reference platelet counter. *J. Clin. Pathol*., **43**, 1990, pp. 932-936
[60] CHIGNIER, E., PARISE, M., MCGREGOR, L., DELABRE, C., FAUCOMPRET, S., MCGREGOR, J., A P-Selectin / CD62P monoclonal antibody (LYP-20), in Tandem with Flow

Cytometry Detects in vivo activated circulating rat platelets in severe vascular trauma. *Thrombosis and Haemostasis*, **72**, 1994, pp. 745-749
[61] KUNDU, S., HELLERMAN, E., SIO, R., GARCIA, C., OSTGAARD, R., Characterization of an in vitro Platelet function Analyzer, PFA-100. *Clin. Appl. Thrombosis/Hemostasis*, **2**, 1996, pp. 241-249

۴- مقالات علمی مربوط به پیوست پ (اطلاعاتی)

[62] *Taber's Cyclopedic Medical Dictionary*, 17th Edition, F.A. Davis Company, Philadelphia, PA, 1993
[63] MUELLER, M.R., SCHIMA, H., ENGELHARDT, H., SALAT, A., OLSEN, D.B., LOSERT, U., WOLNER, E., In vitro Hematological Testing of Rotary Blood Pumps: Remarks on Standardization and Data Interpretation, *Artif. Organs*, **17**(2), 1993, pp. 102-110
[64] NORTHUP, S.J., Hemocompatibility: Not all devices are created equal. *Med. Devic Diagnost. Ind*., Jan. 1997, pp. 145-150
[65] REED, K.W., YALKOWSKY, S.H., Lysis of human red blood cells in the presence of various cosolvents. *J. Par. Sci. Technol*., **39**(2), 1985, pp. 64-68
[66] HOCH, J.R., SILVER, D., Hemostasis and Thrombosis, In *Vascular Surgery: A Comprehensive Review*, 3rd edition, W.S. Moore, ed., W.B. Saunders, Philadelphia, 63-79, 1991
[67] OFFEMAN, R.D., WILLIAMS, M.C., Material effects in shear-induced hemolysis, *Biomater. Med. Dev. Art. Org*., **7**, 979, pp. 359-391
[68] LAMPERT, R.H., WILLIAMS, M.C., Effect of surface materials on shear-induced hemolysis, *J. Biomed. Mater. Res*., **6**, 1972, pp. 499-532
[69] OBENG, E.K., CADWALLADER, D.E., In vitro dynamic method for evaluating the hemolytic potential of intravenous solutions. *J. Parenteral Sci. Technol*., **43**, 1989, pp. 167-173
[70] HENRY, J.B., Hematology and Coagulation, In: *Clinical Diagnosis & Management By Laboratory Methods*, 18th edn., W.B. Saunders Co., Philadelphia, PA, USA, 556-603, 1991
[71] International Committee for Standardization in Haematology (ICSH): Recommendations for reference method for haemoglobinometry in human blood. (ICSH Standard EP 6/2: 1995) and specifications for international hemiglobin cyanide standard(4th edition) *J. Clin. Path*., **49**, 1996, pp. 279-274
[72] MALINAUSKAS, R.A. Plasma hemoglobin measurement techniques for the in vitro evaluation of blood damage caused by medical devices, *Artif. Organs*, **21**, 1997, pp. 1255-1267
[73] Sigma Diagnostics: *Plasma Hemoglobin: Quantitative, colorimetric determination in plasma at 600nm* (Procedure No. 527, April 1991) Sigma Diagnostics, St. Louis, MO
[74] STANDEFER, J.C., VANDERJAGT, D. Use of tetramethylbenzidine in plasma hemoglobin assay. *Clin. Chem*., **23**, 1997, pp. 749-751
[75] FAIRBANKS, V.F., ZIESMER, S.C., O'BRIEN, P.C. Methods for measuring plasma hemoglobin in micromolar concentration compared. Clin. Chem. 1992; **38**:132-140. (Erratum - Correction: Measurements of Plasma Hemoglobin, *Clin. Chem*., **39**, 1993, pp. 2027-2028
[76] HARBOE, M., A method for determination of haemoglobin in plasma by near-ultraviolet spectrophotometry, Scand. *J. Clin. Lab Invest*., **11**, 1959, pp. 66-70

[77] CRIPPS, C.M. Rapid method for the estimation of plasma haemoglobin levels. *J. Clin. Pathol*., **21**, 1968, pp. 110-112
[78] TAULIER, A. [Value of derivative spectrophotometry for the determination of plasma and urinary haemoglobin. Comparison with the method using Allen's correction]. *Ann. Biol. Clin. (Paris)* **44**, 1986, **34** pp. 242-248 French
[79] LAMMERS, M., GRESSNER, A.M., Immunonephelometric quantification of free hemoglobin. *J. Clin. Chem. Clin. Biochem*., **25**, 1987, pp. 363-367
[80] *Standards for Blood Banks and Transfusion Services*, 16th edn. Bethesda, MD: American Association of Blood Banks, 1994
[81] *Guide to the Preparation, Use and Quality Assurance of Blood Components*. Strasbourg: Council of Europe Publishing and Documentation Service, 1992, pp. 37-38
[82] Anticoagulant Citrate Dextrose Solution. *U.S. Pharmacopeia* **23**, 1995, p. 119
[83] Anticoagulant and preservative solutions for human blood: Anticoagulant acid-citrate-glucose solutions (ACD) and Anticoagulant citrate-phosphate-glucose solution (CPD). *European Pharmacopoeia* **0209**, 1997, pp. 400-403
[84] Anticoagulant Citrate Phosphate Dextrose Solution. *U.S. Pharmacopeia* **23**, 1995, pp. 119-120
[85] Anticoagulant Citrate Phosphate Dextrose Adenine Solution, *U.S. Pharmacopeia* **23**, 1995, pp. 121-122
[86] Anticoagulant Heparin Solution. *U.S. Pharmacopeia* **23**, 1995, p. 122
[87] Anticoagulant Sodium Citrate Solution. *U.S. Pharmacopeia* **23**, 1995, p. 122
[88] 29 CFR, Code of Federal Regulations, 1910. 1030, *Bloodborne Pathogens*
[89] WENNBERG, A., HENSTEN-PETTERSEN, A., Sensitivity of erythrocytes from various species to in vitro hemolyzation, *J. Biomed. Mater. Res*., **15**, 1981, pp. 433-435
[90] *A Colour Atlas of Comparative, Diagnostic and Experimental Haematology*, Mosby-Year Book Europe Limited, London, England, 1994
[91] Sterile plastic containers for human blood and blood components. *European Pharmacopoeia*, **3.2.3**, 1997, pp. 175-179