

ČESKÁ TECHNICKÁ NORMA

ICS 07.030; 11.100.10 **Květen 2011**

Nanotechnologie – Endotoxinová zkouška vzorků nanomateriálu systémy *in vitro* – Zkouška *Limulus* amebocyte lysate (LAL)

ČSN
EN ISO 29701
01 2015

idt ISO 29701:2010

Nanotechnologies – Endotoxin test on nanomaterial symplex for *in vitro* systems – *Limulus* amebocyte lysate (LAL) test

Nanotechnologies – Essai d,endotoxine sur des échantillons de nanomatériaux pour des systemes *in vitro* – Essai au lysat d,amébocyte de Limule

Nanotechnologien – Endotoxinprüfung an Proben aus nanomaterial für In-vitro-Systeme – Limulus-Amoebozyten-Lysat-Prüfung (LAL-Prüfung)

Tato norma je českou verzí evropské normy EN ISO 29701:2010. Překlad byl zajištěn Úřadem pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví. Má stejný status jako oficiální verze.

This standard is the Czech version of the European Standard EN ISO 29701:2010. It was translated by Czech Office for Standards, Metrology and Testing. It has the same status as the official version.

Národní předmluva

Vypracování normy

Zpracovatel: ČVUT FSTROJ Praha, IČ 68407700, doc. Ing. Jan Hošek, PhD., Ing. Jaroslav Skopal, CSc.

Technická normalizační komise: TNK 144, Nanotechnologie

Pracovník Úřadu pro technickou normalizaci, metrologii a státní zkušebnictví: Ing. Tomáš Velát

EVROPSKÁ NORMA EN ISO 29701
EUROPEAN STANDARD
NORME EUROPÉENNE
EUROPÄISCHE NORM Zář 2010

ICS 07.030; 11.100.10

Nanotechnologie – Endotoxinová zkouška vzorků nanomateriálu pro *in vitro* – Zkouška *limulus* amebocyte lysate (LAL)
(ISO 29701:2010)

Nanotechnologies – Endotoxin test on nanomaterial symplex for in vitro systems – Limulus amebocyte lysate (LAL) test
(ISO 29701:2010)

Nanotechnologies – Essai d'endotoxine sur des échantillons de nanomatériaux pour des systèmes in vitro – Essai au lysat d'améboocyte de Limule (LAL)
(ISO 29701:2010)

Nanotechnologien – Endotoxinprüfung an Proben aus Nanomaterial für In-vitro-Systeme – Limulus-Amoebocyten- Lysat-Prüfung (LAL-Prüfung)
(ISO 29701:2010)

Tato evropská norma byla schválena CEN 2010-08-22.

Členové CEN jsou povinni splnit Vnitřní předpisy CEN/CENELEC, v nichž jsou stanoveny podmínky, za kterých se musí této evropské normě bez jakýchkoliv modifikací dát status národní normy. Aktualizované seznamy a bibliografické citace týkající se těchto národních norem lze obdržet na vyžádání v Řídicím centru nebo u kteréhokoliv člena CEN.

Tato evropská norma existuje ve třech oficiálních verzích (anglické, francouzské, německé). Verze v každém jiném jazyce přeložená členem CEN do jeho vlastního jazyka, za kterou zodpovídá a kterou notifikuje Řídicímu centru, má stejný status jako oficiální verze.

CEN

Evropský výbor pro normalizaci
European Committee for Standardization
Comité Européen de Normalisation
Europäisches Komitee für Normung

Řídicí centrum: Avenue Marnix 17, B-1000 Brusel

© 2010 CEN Veškerá práva pro využití v jakékoli formě a jakýmkoli prostředky Ref. č.
EN ISO 29701:2010 E
jsou celosvětově vyhrazena národním členům CEN.

Členy CEN jsou národní normalizační orgány Belgie, Bulharska, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Irska, Islandu, Itálie, Kypru, Litvy, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Malty, Německa, Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Rumunska, Řecka, Slovenska, Slovinska, Spojeného království, Španělska, Švédska a Švýcarska.

Předmluva

Tento normativní dokument (EN ISO 29701:2010) byl připraven technickou komisí ISO/TC 229 „Nanotechnologie“ ve spolupráci s technickou komisí CEN/TC 352 „Nanotechnologie“, jejíž sekretariát zajišťuje BSI.

Této evropské normě je nutno nejpozději do března 2011 dát status národní normy, a to buď vydáním identického textu, nebo schválením k přímému používání, a národní normy, které jsou s ní v rozporu, je nutno zrušit nejpozději do března 2011..

Podle Vnitřních předpisů CEN/CENELEC jsou tuto evropskou normu povinny zavést národní normalizační organizace následujících zemí: Belgie, České republiky, Dánska, Estonska, Finska, Francie, Irska, Islandu, Itálie, Kypru, Litevska, Lotyšska, Lucemburska, Maďarska, Malty, Německa, Nizozemska, Norska, Polska, Portugalska, Rakouska, Řecka, Slovenska, Slovinska, Spojeného království, Španělska, Švédska a Švýcarska.

Oznámení o schválení

Text ISO 29701:2010 byl schválen CEN jako EN ISO 29701:2010 bez jakýchkoliv modifikací.

Obsah

Strana

Předmluva 4

Úvod 7

1 Předmět normy 8

2 Terminologie 8

3 Přehled zkratk 9

4 Předpoklady pro předběžné zkoušky 9

4.1 Uchovávání nanomateriálů 9

4.2 Skladovací kontejnery 9

4.3 Manipulace s nanomateriály 9

5 Zkušební vzorek 9

5.1 Vodní disperze 9

5.2 Vodní extrakt 9

6 Příprava zkušebního vzorku 10

6.1 Metoda disperze 10

6.2 Metoda extrakce 10

6.3 Koncentrace 10

6.4 Skladování zkušebních vzorků 10

6.5 Environment laboratoře 10

7 Zkušební metody 11

7.1 Princip 11

7.2 Alternativní zkušební metody 11

7.3 Výběr a validace zkušební metody 12

7.4 Postupy zkoušky 12

8 Posouzení výsledků 12

8.1 Všeobecně 12

8.2 Návod k aplikaci zkoušky 12

9 Zkušební zpráva 13

Příloha A (informativní) Příklady možné interference zkoušky LAL 14

Příloha B (informativní) Metoda srážení gelu 15

Příloha C (informativní) Fotometrické metody stanovení cílového bodu 18

Příloha D (informativní) Kinetická metoda 20

Bibliografie 22

Odmítnutí odpovědnosti za manipulaci s PDF souborem

Tento soubor PDF může obsahovat vložené typy písma. V souladu s licenční politikou Adobe lze tento soubor tisknout nebo prohlížet, ale nesmí být editován, pokud nejsou typy písma, které jsou vloženy, používány na základě licence a instalovány v počítači, na němž se editace provádí. Při stažení tohoto souboru přejímají jeho uživatelé odpovědnost za to, že nebude porušena licenční politika Adobe. Ústřední sekretariát ISO nepřijímá za její porušení žádnou odpovědnost.

Adobe je obchodní značka „Adobe Systems Incorporated“.

Podrobnosti o softwarových produktech použitých k vytvoření tohoto souboru PDF lze najít ve Všeobecných informacích, které se vztahují k souboru; parametry, na jejichž základě byl PDF soubor vytvořen, byly optimalizovány pro tisk. Soubor byl zpracován s maximální péčí tak, aby ho členské organizace ISO mohly používat.

V málo pravděpodobném případě, že vznikne problém, který se týká souboru,

informujte o tom Ústřední sekretariát ISO na níže uvedené adrese.



DOKUMENT CHRÁNĚNÝ COPYRIGHTEM

© ISO 2010

Veškerá práva vyhrazena. Pokud není specifikováno jinak, nesmí být žádná část této publikace reprodukována nebo používána v jakékoliv formě nebo jakýmkoliv způsobem, elektronickým nebo mechanickým, včetně fotokopíí a mikrofilmů, bez písemného svolení buď od organizace ISO na níže uvedené adrese, nebo od členské organizace ISO v zemi žadatele.

ISO copyright office

Case postale 56 · CH-1211 Geneva 20

Tel. + 41 22 749 01 11

Fax + 41 22 749 09 47

E-mail copyright@iso.org

Web www.iso.org

Published in Switzerland

Úvod

Endotoxiny (lipopolysaccharidy, LPS) jsou součástí vnější membrány gramnegativních bakterií, jako jsou *E. coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Pseudomonas*, *Neisseria*, *Haemophilus*. Endotoxin může vyvolat u savců, vč. člověka, řadu systémových reakcí, např. horečku, disseminační intravaskulární srážlivost, snížení krevního tlaku (hypotonie), selhání krevního oběhu a smrt: Reakce jsou nepřímo ovlivněné produkcí různých druhů cytokinů, aktivací kaskády komplementů, aktivací kaskády koagulace atd. Endotoxiny se nacházejí v běžném environmentu. Protože většina vyšetřovacích zkoušek nanomateriálů pro zkušební systémy *in-vitro* a *in-vivo* vyžaduje rozličné postupy přípravy, endotoxiny

mohou znečistit nanomateriály, pokud jsou zkoušky prováděny bez náležité důslednosti.

Za účelem testu toxikologického screeningu nebo zkoušky biokompatibility nanomateriálů nebo pro mechanismus zkoušky jedovatosti vyvolané nanomateriály jsou nyní vyvíjeny a používány různé varianty buněčných zkušebních systémů *in-vitro* a *in-vivo* na modelech zvířat. V *in-vitro* testovacích systémech se nejčastěji používají makrofágy a ostatní relevantní buňky savců, jako testovací buňky, zejména pro nanomateriály, protože jsou primárně odpovědné za sledování buněk v těle. Avšak tyto buňky často reagují s endotoxiny, a proto je obtížné rozlišit reakci na endotoxiny od reakce na nanomateriály. Z tohoto důvodu kontaminace vzorků endotoxiny může značně zkreslit výsledky zkoušek *in vitro*.

Kontaminaci zapříčiněnou endotoxiny lze omezit, pokud se důsledně dodržují postupy při přípravě zkoušky. Z tohoto důvodu je nutná předběžná zkouška endotoxinů, aby se minimalizovala kontaminace, kterou způsobí nebo aby se zjistila úroveň hladiny koncentrace endotoxinů v měřeném vzorku. Dále je důležité určit kvantitativně úroveň endotoxinů, aby bylo možné správně interpretovat naměřená data získaná pomocí biologických testů *in-vitro*.

Endotoxiny mohou znečistit medicínské produkty a léky pro parenterální užívání. Proto byly vyvinuty a zavedeny kvantitativní a semikvantitativní vyšetřovací postupy k určení množství endotoxinů, i jako standard laboratorních postupů pro nanomateriály (viz reference [6]). Zkouška bakteriálních endotoxinů reakcí *Limulus*-amoebocyten lysat (LAL) byla vyvinuta jako *in-vitro* zkouška pro určení přítomnosti kontaminace endotoxiny. Je to alternativa ke zkoušce pyrogenicity na králících, odpovídající metody jsou popsány ve farmakologii mnoha zemí.

ISO 29701 obsahuje základní informace o zkoušce LAL a popisuje návod na zkoušku LAL nanomateriálů, které jsou pro biologické zkoušky *in-vitro*.

1 Předmět normy

Tato mezinárodní norma určuje zkoušku reakce *Limulus* amoebocyten lysat (LAL) pro důkaz a kvantitativní vyhodnocení nanomateriálů určených pro biologické kontrolní systémy *in-vitro* na bázi buněk. Zkouška je vhodná pro vzorky nanomateriálů rozptýlených ve vodním prostředí např. vodě, séru nebo reakčním mediu s nanomateriály která jsou udržovaná na teplotě 37 °C.

Tato mezinárodní norma se týká pouze *in-vitro* systémů, ale lze ji přizpůsobit i pro nanomateriály, které přijímají zvířata parenterálními (mimostřevními) cestami.

Konec náhledu - text dále pokračuje v placené verzi ČSN.