

备案号:1966—1998



中华人民共和国医药行业标准

YY 0305—1998

羟基磷灰石生物陶瓷

Hydroxyapatite Bioceramics

1998-04-08 发布

1998-10-01 实施

国家医药管理局 发布

目次

前言 I

1 范围 1

2 引用标准 1

3 定义、符号和缩略语..... 1

4 技术要求 2

5 试验方法 3

6 检验规则 5

7 标志、标签、包装、运输、贮存 6

附录 A(标准的附录)生物学性能试验方法 8

附录 B(提示的附录)使用标准说明 12

前 言

本标准涉及羟基磷灰石生物陶瓷的化学组成和物理化学性质、生物学评价及检验规则、标志、包装和储运。

化学组成主要参照美国试验与材料学会 ASTM F1185:1988《外科植入用羟基磷灰石陶瓷组分标准规范》制定,该标准对试验方法未作指令性要求。溶解度试验引用 GB 9724—88,密度试验引用 GB 1966—80,粒度分级及试验引用 GB/T 1480—1995。

本标准生物学评价根据国际标准化组织 ISO/TR 7405:1984《牙科材料生物学评价》,ISO 10993:1992《医疗器械生物学评价》和 ASTM F748:1982《医用材料和装置选择的一般生物学试验方法的实施标准》制定。试验项目选择引用 YY 0268—1995《口腔材料生物学评价 第1单元:口腔材料生物性能评价导则》中第2类 2.4b)陶瓷的规定,试验方法引用 GB 11749—89 中 A2/A3,YY/T 0127—93,并参照 ASTM F981—1986《用于外科植入的无孔生物材料相容性评价(有关材料对肌肉和骨骼的作用)的实施标准》。

块状羟基磷灰石陶瓷形态繁多,不能作具体规定,只能给出公差范围。

本标准附录 A 是标准的附录。

本标准附录 B 是提示的附录。

本标准由国家医药管理局提出。

本标准由全国口腔材料和器械设备标准化技术委员会归口。

本标准起草单位:四川大学生物材料工程研究中心。

本标准主要起草人:冯健清、张兴栋、李玉宝、朱蔚精、翁杰。

中华人民共和国医药行业标准

羟基磷灰石生物陶瓷

YY 0305—1998

Hydroxyapatite Bioceramics

1 范围

本标准规定了羟基磷灰石生物陶瓷的技术要求、试验方法、检验规则以及对抽样、标签、包装、运输和贮存等的要求。

本标准适用于不承力或仅承受压力的牙科和外科植入用羟基磷灰石生物陶瓷及制品。

2 引用标准

下列标准所包含的条文,通过在本标准中引用而构成本标准的条文。本标准出版时,所示版本均为有效。所有标准都会被修订,使用本标准的各方应探讨使用下列标准最新版本的可能性。

GB 191—90 包装储运图示标志

GB/T 1480—1995 金属粉末粒度组成的测定 干筛分法

GB 6003—85 试验筛

GB/T 1871.1—1995 磷矿石和磷精矿中五氧化二磷含量的测定 磷钼酸喹啉重量法和容量法

GB/T 1871.4—1995 磷矿石和磷精矿中氧化钙含量的测定 容量法

GB 1966—80 多孔陶瓷显气孔率、容重试验方法

GB 2828—87 逐批检查计数抽样程序及抽样表(适用于连续批的检查)

GB 2829—87 周期检查计数抽样程序及抽样表(适用于生产过程稳定性的检查)

GB 9723—88 化学试剂 火焰原子吸收光谱法通则

GB 9724—88 化学试剂 pH 测定通则

GB 10724—89 化学试剂 无火焰(石墨炉)原子吸收光谱法通则

GB 11749—89 牙科复合树脂充填材料

YY/T 0127.1—93 口腔材料试验方法 溶血试验

YY/T 0127.2—93 口腔材料试验方法 静脉注射急性全身毒性试验

YY 0268—1995 口腔材料生物学评价 第1单元:口腔材料生物性能评价导则

YY/T 0244—1996 口腔材料试验方法 短期全身毒性试验:经口途径

JB/T 001—1995 红外光谱分析方法通则

中华人民共和国药典(1995年版)

3 定义、符号和缩略语

本标准采用下列定义和符号。

3.1 定义

羟基磷灰石生物陶瓷 Hydroxyapatite bioceramics

由化学式为 $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ 的磷酸钙盐构成的一种陶瓷,缩写为 HAC。通常利用陶瓷工艺烧结而成,用于人体组织或器官的修复、替代或增进其功能。

3.2 符号

根据用途,羟基磷灰石生物陶瓷可制成具有不同形态和几何尺寸的多孔和致密型陶瓷和制品,其表示符号如表1所示:

表1 羟基磷灰石陶瓷类型、形态、用途及几何尺寸表示法

类 型	类型符号	型号表示法	示 例
多 孔 颗粒型	GP	于类型符号后标注颗粒粒度范围的上限值(最大粒度)和下限值(最小粒度)。此值应符合 GB/T 1480 中筛孔名义尺寸值	GP 1400—1000 表示粒度上限为 1 400 μm ,下限为 1 000 μm 的多孔型颗粒。
致 密 颗粒型	GD		GD 125—75 表示粒度上限为 125 μm ,下限为 75 μm 的致密型颗粒
多 孔 块状型	BP	于类型符号后按序用符号“/”、用途或形态代号、几何尺寸值表示。用途或形态代号用相应词的英文缩写表示,几何尺寸以毫米为单位或用 L(大)、M(中)、S(小)符号表示	BP/Rect. 15 $\times$ 10 $\times$ 4 表示长宽高为 15mm $\times$ 10mm $\times$ 4mm 的长方形(Rect.)多孔块状陶瓷。
致 密 块状型	BD		BD/ ϕ 6 $\times$ 4 表示直径(ϕ)为 6mm,长为 4mm 的致密块状体。 BP/TF(L)表示多孔型大号喉管支架(throat frame)

4 技术要求

4.1 物理化学性能

4.1.1 化学组成

4.1.1.1 钙、磷原子比

Ca/P 原子比应为 1.67 ± 0.02 。

4.1.1.2 相成分及结晶度

X 射线衍射谱应符合 PDF 粉末衍射卡 No. 9-432,并无明显的其他磷酸钙和结晶物质峰,也无明显的非晶物质表现。

羟基磷灰石含量大于 95%。

4.1.1.3 红外吸收谱

应显示羟基(OH^-)吸收峰:3 570 cm^{-1} , 631 cm^{-1} ;磷酸根(PO_4^{3-})吸收峰:570 cm^{-1} , 600 cm^{-1} , 961 cm^{-1} , 1 045 cm^{-1} , 1 090 cm^{-1} ;无碳酸根、羰基、氨基或其他杂质峰出现。

4.1.1.4 微量杂质元素和重金属总量极限

砷(As) $\leq 3\text{mg/kg}$,镉(Cd) $\leq 5\text{mg/kg}$,汞(Hg) $\leq 5\text{mg/kg}$,铅(Pb) $\leq 30\text{mg/kg}$,重金属总量(以铅计) $\leq 50\text{mg/kg}$ 。

对已确定的所有未以铅计的金属或氧化物,当它们的浓度大于或等于 0.1%时,建议将其另页列出并附于包装中。

4.1.2 物理性能

4.1.2.1 外观

白色,无肉眼可见杂色物。块状型产品的表面应无缺损、无裂纹。

4.1.2.2 尺寸

a) 颗粒型制品:超过粒度上限的颗粒重量不大于 1%,小于粒度下限的颗粒重量不大于 5%,粒度分布或组成可由供需双方商定。

b) 块状型制品:尺寸大于 10mm 的边或棱公差为 $\pm 1\text{mm}$,不大于 10mm 的公差为 $\pm 0.5\text{mm}$ 。

4.1.2.3 密度及容重、显气孔率

a) 致密型密度 $\geq 3.00\text{g/cm}^3 \pm 0.005\text{g/cm}^3$ 。

b) 多孔型容重 $< 2.80\text{g/cm}^3$, 显气孔率 12%~60%。

4.1.2.4 溶解性

羟基磷灰石陶瓷按 1% 的重量比在 37℃ 的去离子水中浸泡 24h, 浸出液 pH 值介于 6.5~7.5 之间。

4.1.2.5 力学性能

机械强度可由供需双方商定。

4.2 生物学性能

4.2.1 溶血试验

溶血率 $\leq 5\%$ 。

4.2.2 细胞毒性试验

细胞毒性 0-1 级。

4.2.3 短期全身毒性试验; 经口途径

无毒性。

4.2.4 静脉注射急性全身毒性试验

无毒性。

4.2.5 皮肤刺激试验

无刺激。

4.2.6 Ames 试验

诱变试验阴性。

4.2.7 致敏试验

无过敏反应。

4.2.8 骨内植入试验

总毒性比率 1~0 级(≤ 1 级)。

4.2.9 皮下植入试验

埋植 12 周, 无反应或轻度反应。

5 试验方法

5.1 物理化学试验

5.1.1 化学组成

5.1.1.1 钙磷原子比(Ca/P)

按 GB/T 1871.1 测定磷含量, 按 GB 1871.4 测定钙含量, 并据此计算 Ca、P 原子比。

5.1.1.2 相成分及结晶度

5.1.1.2.1 建立定标曲线

5.1.1.2.1.1 羟基磷灰石和 β -磷酸三钙混合样的 HA 定标曲线

a) 将羟基磷灰石(HA)和磷酸三钙(TCP)纯粉分别置于刚玉坩埚, 放入箱式电炉中, 以每分钟 5℃ 的升温速率加热至 1050℃, 保温 2h, 随炉冷却至室温后取出, 用玛瑙乳钵研细。

b) 用 X 射线衍射仪测定两种粉末的衍射谱(Cu K α , 石墨单色器), 扫描速度 0.2°/s, 扫描范围 2θ : 10°~50°, 所得 X 射线衍射谱图应分别符合 PDF 粉末衍射文件 No. 9-432(HA) 和 No. 9-169(β -TCP), 不能有其他杂相峰和明显的非晶相显示。

c) 准确称取上述烧制后的粉末, 按 HA 百分含量分别为 0, 10%, 30%, 50%, 70%, 90% 和 100% 配制一系列 HA 与 β -TCP 的混合标样, 分别置于玛瑙乳钵中小心研磨混匀。

d) 按扫描速度 0.2°/min, 扫描范围 2θ : 30.0°~32.5° 和以纯 HA 为准选择适当的功率和计数率, 使 HA 的最强衍射峰(31.8°)接近记录纸的满度为测定条件, 分别获取上述纯样和混合标样的 X 射线衍射

谱。测量各混合标样衍射谱中 HA 的最强峰(31.8°)和 β -TCP 的最强峰(31.0°)的峰高值 i_{HA} 和 $i_{\beta\text{-TCP}}$, 以及纯 HA 衍射谱中最强峰(31.8°)和纯 β -TCP 衍射谱中最强峰(31.0°)的峰高值 $i_{\text{纯HA}}$ 和 $i_{\text{纯}\beta\text{-TCP}}$, 用回归法按式(1)计算各混合标样中 HA 的相对衍射强度 ρ :

$$\rho = \frac{I_{\text{HA}}}{I_{\text{HA}} + I_{\beta\text{-TCP}}} \dots\dots\dots (1)$$

式中: $I_{\text{HA}} = \frac{i_{\text{HA}}}{i_{\text{纯HA}}}$;

$$I_{\beta\text{-TCP}} = \frac{i_{\beta\text{-TCP}}}{i_{\text{纯}\beta\text{-TCP}}}.$$

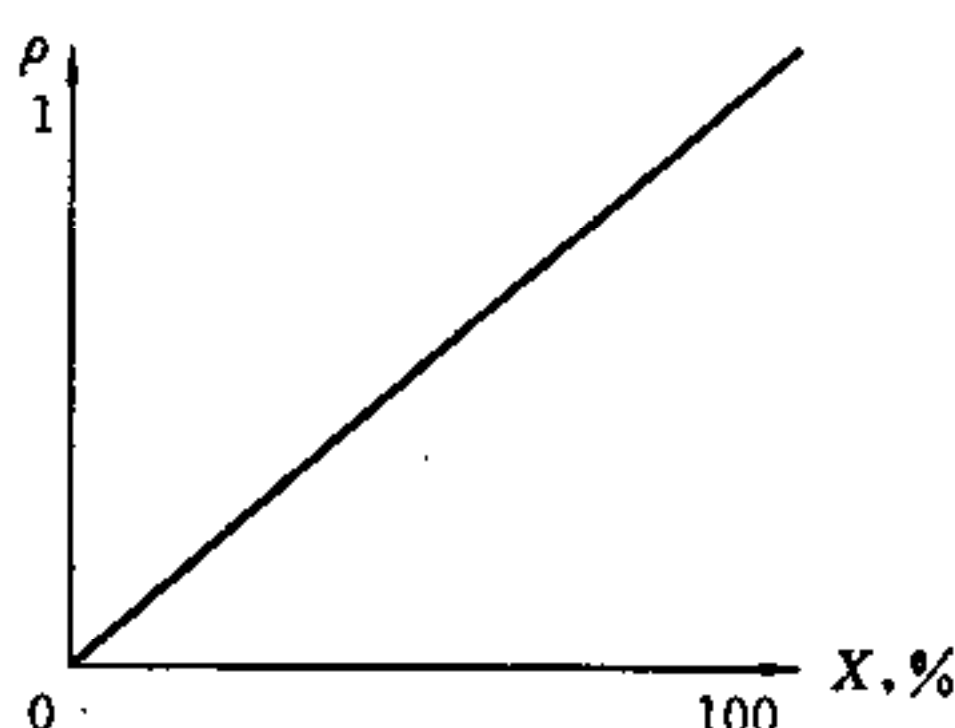


图 1

以 HA 百分含量 X 对相对衍射强度 ρ 作 HA/ β -TCP 混合样的 X — ρ 定标曲线。

5.1.1.2.1.2 羟基磷灰石和 α -磷酸三钙混合样的 HA 定标曲线

a) 将羟基磷灰石(HA)和磷酸三钙(TCP)纯粉分别置于刚玉坩埚放入箱式电炉中,以每分钟 5℃ 的升温速率加热至 1 250℃,保温 4h 后从炉中取出冷却至室温,用玛瑙乳钵研细。

b) 同 5.1.1.2.1.1 b),测定两种粉末的衍射谱,谱图应分别符合 PDF 粉末衍射文件 No. 9-432 (HA)和 No. 9-348(α -TCP)。

c) 同 5.1.1.2.1.1 c),配制一系列 HA 与 α -TCP 的混合标样。

d) 方法同 5.1.1.2.1.1 d), α -TCP 的最强衍射峰为 30.7°,测量 HA 和 α -TCP 的最强峰的峰高值,计算 HA 与 α -TCP 混合标样中 HA 的相对衍射强度 ρ ,作出 HA/ α -TCP 混合样的 X - ρ 定标曲线。

5.1.1.2.2 测定 HA 百分含量

取 6g 样品及纯 HA 和纯 TCP 粉末置于箱式电炉中,样品中若只含有 β -TCP,按 5.1.1.2.1.1 a) 加热方法制备试样;若仅含有 α -TCP 或同时含有 β -TCP 和 α -TCP,则按 5.1.1.2.1.2a)加热方法制备试样。

按 5.1.1.2.1.1b)的方法测定样品的衍射谱,谱图中主相的衍射峰应符合 PDF 粉末衍射文件 No. 9-432,除可含单一的 β -TCP 或 α -TCP 相外,不能有明显的其他杂相峰和非晶相存在。若谱图中同时有 β -TCP 和 α -TCP 衍射峰出现,则应将样品和纯样按 5.1.1.2.1.2a)方法重新加热至 1 250℃ 处理使其只含 α -TCP 后再测衍射谱。

在确认样品中除主相外仅含单一 TCP 杂相后,将样品分为三个平行样,按 5.1.1.2.1.1d)方法测定其衍射谱,同时作相应的纯 HA 和纯 TCP 的衍射谱,并按式(1)用回归法计算三个样品的 HA 相对衍射强度 ρ_1, ρ_2, ρ_3 ,取其算术平均值,代入相应的 X - ρ 定标曲线中得出 HA 的百分含量 X 。以 HA 含量不小于 95%,X 射线衍射谱中无其他杂相峰为合格。

5.1.1.3 红外吸收光谱

按 JB/T 001 进行。

5.1.1.4 杂质元素分析

5.1.1.4.1 砷的测定

按《中华人民共和国药典》(1995年版)附录中砷盐检查法进行。

5.1.1.4.2 镉的测定

按 GB 10724 进行。

5.1.1.4.3 汞的测定

按 GB 9723 进行。

5.1.1.4.4 铅的测定

按 GB 10724 进行。

5.1.1.4.5 重金属元素总量

按《中华人民共和国药典》(1995年版)附录中重金属检查法进行。

5.1.2 物理性能

5.1.2.1 外观

目测法,将试样放在培养皿中,在自然光下观测。

5.1.2.2 尺寸

5.1.2.2.1 颗粒型产品

按 GB/T 1480 进行。试验筛应满足 GB 6003 要求。

注:样品量,100g。

5.1.2.2.2 块状型产品

用游标卡尺测定。游标卡尺精度:0.02mm。

5.1.2.3 密度及容重

按 GB 1966 进行。

5.1.2.4 溶解性

按 GB 9724 进行。

5.2 生物学性能

参见附录 A(标准的附录)。

6 检验规则

6.1 每批产品均应经生产单位技术监督部门进行质量检验,合格后方可验收入库。

6.2 产品必须成批提交检查。检查分逐批检查和周期检查。

6.3 逐批检查

6.3.1 逐批检查按 GB 2828 规定进行。

6.3.2 抽样方案

6.3.2.1 HA 块状型产品采用一次抽样,抽样方案严格性按正常检查抽样方案进行,检查水平为 I,缺陷分类、检查项目和 AQL(合格质量水平)按表 1 规定。采取随机抽样方式抽取被检查的样本。产品的相成分和结晶度(4.1.1.2)微量杂质元素和重金属总量极限(4.1.1.4)用陪样进行测试。陪样与同批产品用相同工艺同时制作。

表 1 HA 块状型产品逐批检查

缺陷分类	严重缺陷	轻缺陷
检查项目	4.1.2.2	4.1.2.1
AQL	4.0	8.5

6.3.2.2 HA 颗粒型产品采用一次抽样。抽样方案严格按正常检查抽样方案进行,检查水平为 S-1,缺陷分类、检查项目和 AQL(合格质量水平)按表 2 的规定进行。采取随机抽样方式抽取被检查的样本。

表 2 HA 颗粒型产品逐批检查

缺陷分类	严重缺陷	轻缺陷
检查项目	4.1.2.1	4.1.2.2a), 4.1.2.3
AQL	6.5	10

产品的相成分和结晶度(4.1.1.2),微量杂质元素和重金属总量极限(4.1.1.4)由该批产品中随机抽取一件样本进行检测。

6.4 周期检查

6.4.1 在下列情况下应进行周期检查

- a) 产品初次投产前;
- b) 间隔一年以上再投产时;
- c) 设计、工艺或生产设备有重大变化时;
- d) 原料批号(产地)更换时。

6.4.2 对表 1、表 2 所列项目,周期检查前先进行逐批检查,从逐批检查合格的批中抽取样本进行周期检查。检查按 GB 2829 进行,采用一次抽样。

6.4.2.1 HA 块状型产品周期检查前先进行逐批检查,从 3 批合格产品中每批抽 2 个试样共 6 个试样组成样本,检查项目判定数组和 RQL(不合格质量水平)按表 3 规定进行。块状型产品的相成分和结晶度(4.1.1.2),微量杂质元素和重金属总量极限(4.1.1.4)用陪样进行测试,该 3 批产品每批测一个陪样,陪样与同批产品用相同工艺同时制作。

表 3 HA 块状型产品周期检查

检查项目	检查周期	判定数组或合格标准	RQL
4.1.2	6.4.1 规定情况	$n=6; [A_c=0, R_c=1]$	15
4.2	6.4.1 中 a), c) 规定情况	符合 4.2	—
4.1.1, 4.1.3	6.4.1 规定情况	符合 4.1.1 和 4.1.3 规定	—

6.4.2.2 对表 2 所列检查项目,进行颗粒型产品周期检查前应首先进行逐批检查。从逐批检查合格的批中抽取样本进行周期检查。检查按 GB 2829 进行。采用一次抽样方案,从连续 3 批产品中,每批随机抽取 1 件试样共 3 件组成样本,判定数组和 RQL(不合格质量水平)按表 4 进行。

表 4 HA 颗粒型产品周期检查

检查项目	检查周期	判定数组或合格标准	RQL
4.1.2	6.4.1 规定情况	$n=3; [A_c=0, R_c=1]$	30
4.1.1	6.4.1 规定情况	$n=3; [A_c=0, R_c=1]$	30
4.2	6.4.1a) 规定情况	符合 4.2 规定为合格	—

6.4.3 周期检查合格,必须是本周所有检查项目都合格,否则就认为周期检查不合格。

7 标志、标签、包装、运输、贮存

7.1 羟基磷灰石生物陶瓷及制品必须密封包装在容器中,包装容器应无毒,不污染和影响陶瓷的性能,包装容器还应具有在正常搬运或贮存期间不损坏、不破裂的性能。

7.2 内包装应注明规格、型号、数量、商标和批号。

7.3 外包装上应有制造单位名称、地址、商标、产品名称、规格、批准号、重量和数量、生产批号、有效期、

贮存和运输注意事项等标志。

7.4 每一包装应附检验合格证和使用说明书,使用说明书应按国家有关规定编写,至少应有下列内容:

- a) 制品的主要成分;
- b) 临床使用简要说明;
- c) 注意事项及禁忌症;
- d) 制品贮存保管注意事项;
- e) 使用过程中可能出现的意外及应采取的措施。

7.5 运输和贮存

本品清洁、安全、轻质,适于空运,亦可陆运及船运。本品宜存于干燥、清洁处。

附录 A
(标准的附录)
生物学性能试验方法

A1 溶血试验

按 YY/T 0127.1 进行。

A2 细胞毒性试验(分子过滤法)

按 GB 11749—89 中 A2 进行。

A3 短期全身毒性试验:经口途径

按 YY/T 0244 进行。

A4 静脉注射急性全身毒性试验

按 YY/T 0127.2 进行。

A5 皮肤刺激试验

A5.1 范围

本试验用于评价试验材料的组织刺激作用,这是一个急性毒性试验,是为检测试验材料是否存在有害浸提物质而设计的。

A5.2 试样浸提液的制备

A5.2.1 0.9%氯化钠(NaCl)溶液浸提液的制备

从抽样中称取材料或制品 4g,若系块状材料,应碎裂成 $\phi 1\sim 2\text{mm}$ 大小的颗粒。材料经自来水冲洗,超声波清洗两次,蒸馏水摇洗两次,每次约 1min。置带塞试管内,加 0.9%氯化钠(NaCl)溶液 20mL,于 121℃ 条件下浸提 1h,室温冷却,备用。浸提液应在 24h 内注射,若放置超过 24h,应重新制备浸提液。

A5.2.2 阴性对照物与阳性对照物

A5.2.2.1 阴性对照物

0.9%氯化钠(NaCl)溶液。

A5.2.2.2 阳性对照物

2%甲醛溶液。

A5.2.2.3 对照溶液的处理方法与浸提液相同。

A5.2.2.4 浸提液在室温存放,应在 24h 内注射,超过 24h,应重新制备浸提液。

A5.3 试验动物

A5.3.1 使用健康白色家兔,体重 2.0~2.5kg,皮肤光滑,无皮肤病或损伤,使用前未作过任何试验。每一试验材料至少用 2 只动物。

A5.4 试验步骤

A5.4.1 于试验前 24h,剪去动物脊柱两侧背毛,暴露足够的面积,避免机械刺激或损伤。

A5.4.2 试验时,用 75%酒精消毒皮肤,在每只动物脊柱一侧作皮内注射 10 点,每点注射材料浸提液 0.2mL,间隔 20mm;另一侧注射 0.9%氯化钠(NaCl)或 2%甲醛溶液,共 5 个点,每点 0.2mL。

A5.4.3 注射后 24h、48h 和 72h 观察注射局部皮肤和周围组织的反应。按表 A1 所示,对皮肤红肿和水肿表现进行记分分级评价。

表 A1 皮肤反应和记分

红 斑	记 分	水 肿	记 分
无红斑	0	无水肿	0
轻度红斑	1	很轻的水肿(勉强看出)	1
明显红斑	2	轻度水肿(隆起而轮廓清楚)	2
中等到严重红斑	3	中度水肿(隆起近 1mm)	3
严重红斑(紫色)到轻度焦痂形成	4	严重水肿(隆起>1mm)	4

A5.5 结果判断

A5.5.1 在观察期内,试验与阴性对照的组织反应类型相似,则认为该材料浸提液对皮肤无刺激性。

A5.5.2 若有一只动物出现中等或严重的组织反应,另一只动物无反应,则应再用 3 只动物作重复试验,若重复试验结果与阴性对照无明显差异,则认为无刺激性。

A5.6 结果评价

试验结果符合 A5.5 要求,则认为该材料符合 4.2.5 规定。

A6 Ames 试验

按 GB 11749—89 中 A3 进行。试样为材料浸提液。

A7 致敏试验

按 GB 11749—89 中 A4 进行。试样为材料浸提液。

A8 骨植入试验

参照 ASTM F981:1986 进行。

A8.1 范围

本试验适用于外科植入,无吸收的生物材料的组织反应,适用于评价在人体骨骼内停留超过 30 天,且不被吸收的材料。

A8.2 植入试样的制备

A8.2.1 将受试材料制备成 $\phi 2\text{mm} \times 6\text{mm}$ 圆柱体,表面光洁,同时制备 $\phi 2\text{mm} \times 6\text{mm}$ 阴性对照试样。

A8.2.2 试样与对照样品经自来水冲洗,超声波清洗两次,每次约 1min,在 121℃ 30min 高压蒸汽灭菌。

A8.2.3 植入样品的清洁、包装、消毒方式应与产品临床应用一致。

A8.3 试验动物

选用体重 2~2.5kg 大白兔。

A8.4 植入期间

以相同的外科手术将所有的植入样品,分别植入每只动物,以便使植入期间的组织反应相一致。每一时间至少 4 只大白兔。

A8.5 植入步骤

A8.5.1 采用灭菌操作技术,暴露动物股骨外侧骨皮质,用符合要求的设备和技术,以 2 000~3 000r/min 的速度,在股骨外侧骨皮质上钻三个孔($\phi 2\text{mm}$),分别用手指或器械将植入样品压入洞内,每条股骨植入试样 2 个,对照样 1 个,然后缝合封闭创口。

A8.6 植入物的取出和动物处死

A8.6.1 于植入后 1、2、4、8、12、26 和 52 周,动脉放血处死动物,每次 4 只。

A8.6.2 观察植入物及其周围组织,记录肉眼所见的改变。

A8.6.3 将植入物及其周围的骨组织一起取下来,在切取的组织样品中,至少要包含 5mm 厚的植入物周围组织。

A8.7 组织学样品制备

A8.7.1 自每一植入部位制备组织块。

A8.7.2 将组织块置 20% 甲醛溶液中固定,制备成组织病理切片,切组织片时,应由一端到另一端同时记录植入样品周围组织的肉眼观察所见。

A8.7.3 如果需要特殊染色,应另外制备组织块或切片。

A8.8 组织病理观察

A8.8.1 观察试样周围组织的病理反应,并与对照样品周围的组织反应相比较。观察瘢痕厚度,炎性细胞或其他种类的细胞以及在试验条件下确实由材料引起的组织反应。

A8.8.2 将细胞成分和组织坏死的程度划分为 0~3 级。

A8.8.2.1 在高倍镜下观察,按炎性细胞的数量和种类划分为 0~3 级,共 5 级。

表 A2 炎性细胞数量划分

炎性细胞数量,个	级 别	炎性细胞数量,个	级 别
0	0	16~25	2
1~5	0.5	26 以上	3
6~15	1		

A8.8.2.2 在高倍镜下观察,将组织坏死程度划分为 0~3 级,共 5 级。

表 A3 组织坏死程度划分

程 度	级 别	程 度	级 别
无坏死	0	中等坏死	2
很轻微坏死	0.5	严重坏死	3
轻微坏死	1		

A8.8.2.3 采用 0~4 级给出植入物样品的总毒性比率。

表 A4 植入物样品总毒性比率划分

比 率	级 别	比 率	级 别
无毒性	0	中等毒性	3
很轻微毒性	1	严重毒性	4
轻微毒性	2		

A8.8.2.4 比较试样和对照样品的级别,评价试验材料的总毒性分级 ≤ 1 为可接受的。

A8.8.3 按表 A5 规定,观察并记录细胞成分和坏死程度,进行评价。

表 A5 推荐的评价格式和等级

动物数 植入时间(周数) 样品描述 交叉反应 组织病理切片数						
级 别		0	0.5	1	2	3
坏死 退变 炎症						
细胞 浸润	多形核白细胞 淋巴细胞 嗜中性细胞 浆细胞 巨噬细胞					
纤维变性 巨细胞 外物碎屑 脂肪浸润 涉及区域的相应尺寸,mm 组织病理毒性比率						

A9 皮下植入试验

A9.1 范围

本试验用于评价长期接触皮下组织的材料的体内毒性。

A9.2 试验动物

选用年龄在 80~100 天的豚鼠 20 只,或体重 180~200g 的大白鼠 20 只。若用豚鼠,应在饮水中补充维生素 C(0.8g/L)。

A9.3 试样制备

按照制造厂商的使用说明书制备材料。将 HA 陶瓷和医用纯钛分别制备成 $\phi 1.3\text{mm}$,长 5mm 的圆柱体,表面光滑,两端圆钝。经超声波清洗后,用蒸馏水洗两次。高压蒸汽灭菌,备用。

A9.4 植入步骤

在每一试验动物背部,剃毛,暴露足够的面积,将剃毛区划分为 4 个象限,碘酒酒精常规消毒皮肤。以外科无菌操作技术,在每个象限的皮肤上作一切口,长约 10mm,钝性分离达皮下组织。将试样 2 个对照样 2 个,分别放入皮下组织内,关闭切口,缝合皮肤。

于植入后 48h,粗略观察切口和植入区域的组织反应。并于植入后 2 周和 12 周各活杀 10 只动物切取植入物及其周围组织。20%中性甲醛固定石蜡包埋。制作 5 μm 厚的组织病理切片。光镜下观察植入物周围的组织改变。

A9.5 组织学判断标准(表 A6)

表 A6 组织学判断标准

组 织 反 应	2 周	12 周
无 或轻度反应	组织完好,试样周围仅见少量淋巴细胞, 纤维囊壁致密	组织完好,试样周围无或仅有少量的淋巴 细胞,纤维囊壁稳定,无增厚趋势
中度组织反应	试样周围有少量淋巴细胞,可见中性粒细 胞、浆细胞、巨噬细胞,偶见异物巨细胞	可见一些慢性炎细胞、淋巴细胞、浆细胞, 偶见异物巨细胞,所见纤维母细胞、纤维细 胞与胶原纤维,已形成纤维囊腔结构
重度反应	组织反应清楚,可见嗜中性白细胞和淋巴 细胞聚集,结构改变。可见小血管和纤维母 细胞增生,开始形成疏松的纤维囊腔	组织反应严重,可见淋巴细胞浆细胞、巨 噬细胞聚集,偶见异物巨细胞、嗜中性白细 胞继续出现,纤维囊腔形成,增厚

A9.6 结果评价

A9.6.1 2周和12周时,出现无反应或轻度反应,表明材料是可接受的。在2周时无组织反应或轻度反应,但在12周时组织反应增加到中度或重度反应,则不能接受。

A9.6.2 在2周和12周时组织反应均为中度,是不能接受的,在2周时为中度反应,而在12周时变为无反应或轻度反应,是可以接受的。

A9.6.3 任一时间出现重度反应都是不能接受的。

A9.6.4 比较对照植入物和试验植入物引起的组织反应,均应符合以上三条规定。

附 录 B

(提示的附录)

使用标准说明

本标准是羟基磷灰石生物陶瓷和制品的材料标准,为羟基磷灰石生物陶瓷满足生物相容性要求提出了材料的技术规范。虽然植入材料引起的生物学反应主要依赖于材料的组成和性质,但由羟基磷灰石陶瓷制成的最终产品,其生物相容性还与其形态、结构、使用目的和植入体位等密切相关。因此,除可与市场准入的羟基磷灰石生物陶瓷产品等同的产品外,其他各种羟基磷灰石植入体,除应当符合本标准要求外,还必须按国家医药管理局有关规定进行动物和临床试验。

临床使用的羟基磷灰石植入体,除应当符合本标准规范要求外,根据使用目的,还有对其形态、孔隙率、力学性能等的特殊要求,这种要求彼此不同,本标准难于规定。本标准只保证材料植入后所引起的生物学反应是可以接受的。