

T/CSBM

团 体 标 准

T/CSBM 0016—2021

镍钛形状记忆合金骨植入物镍离子释放 的体外测试方法

In vitro testing method for nickel ion release of nickel-titanium shape memory alloy
bone implant

2021 - 04 - 26 发布

2021 - 10 - 01 实施

中国生物材料学会 发布

目 次

前言	II
1 范围	1
2 规范性引用文件	1
3 术语和定义	1
4 方法原理	1
5 试剂	1
6 仪器	2
7 试样	2
8 分析步骤	3
9 结果计算	4
10 试验报告	4
附录 A（资料性） 试样的制备	6
参考文献	8

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

本文件由中国生物材料学会提出。

本文件由中国生物材料学会团体标准化技术委员会归口。

本文件起草单位：兰州西脉记忆合金股份有限公司、甘肃省医疗器械检验检测所、江阴佩尔科技有限公司、上海昕昌记忆合金科技有限公司、国标（北京）检验认证有限公司、有研医疗器械（北京）有限公司、中国食品药品检定研究院。

本文件主要起草人：郑亚亚、杨艳丽、杨英、闫鹏伟、罗万东、杨晓凤、吴俊、朱家珍、张文梅、宋丽霞、陈庆福、朱毅俊、张凯、马悦辉、李景元、缪祥文、袁志山、李君涛、汤京龙、宋可婧。

本文件首次发布。

镍钛形状记忆合金骨植入物镍离子释放的体外测试方法

1 范围

本文件规定了镍钛形状记忆合金骨植入物镍离子释放的体外测试方法的术语和定义、方法原理、试剂、仪器、试样、分析步骤、结果计算、试验报告。

本文件适用于镍钛形状记忆合金骨植入物镍离子释放的体外测试。

2 规范性引用文件

本文件没有规范性引用文件。

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

测试溶液 Test solution

依照8.1制备的溶液。

3.2

试样 Sample

试样与骨植入物具有同材料且为同一批号，相同的生产工艺。试样的结构详见附录A。

3.3

试样测试面积 Sample test area

浸入测试溶液试样的面积。

3.4

镍释放量 Nickel release

浸入测试溶液的试样在特定环境下存放一定时间后，测定测试溶液中的含镍量用每平方厘米每天的微克数 $[\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})]$ 表示。

4 方法原理

随时间推移测试从器械中释放出来的镍离子，得到不同浸提时间的镍离子释放量，试验将采用对同一器械进行多次浸提的方式。首先，将器械放置于一个合适的容器中，容器中装有测试溶液，在温度范围 $(37 \pm 1)^\circ\text{C}$ 内进行浸提。到达规定的时间(8.4)后，取出全部浸提液，再注入新溶液继续浸提，重复上述过程，直至完成所有设置时间点的浸提。测试溶液中镍离子浓度可用石墨炉原子吸收光谱仪(AAS)、电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)或电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)或其他适当的分析方法测定。相应设置时间点镍释放量的单位为微克/平方厘米·每天 $[\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})]$ 。所有时间点取出的浸提液，应尽快测试其镍离子浓度。

5 试剂

5.1 一般要求

分析中宜使用符合国家标准和分析纯试剂、蒸馏水/去离子水或相当纯度的水。使用其他试剂应能提供合理性说明。试剂见表1。

表1 试剂名称

试剂名称	备注
去离子水	若干
氯化钠	8.0 g
氯化钾	0.2 g
磷酸二氢钠	0.2 g
磷酸氢二钠 (Na ₂ HPO ₄ · 12H ₂ O)	2.9 g
浓盐酸	密度 ρ = 1.179 g/mL
氢氧化钠	按需要配制
硝酸	质量分数为65%，密度 ρ = 1.40 g/mL
稀硝酸	质量分数约为5%

5.2 稀硝酸

将硝酸15 mL移入预先装有去离子水100 mL的500 mL烧杯中，搅拌并冷却至室温。将溶液移入250 mL容量瓶中，用去离子水稀释至刻度，混匀。

6 仪器

6.1 分析光谱仪

分析仪器灵敏度应达到 μg/L或更高，推荐使用石墨炉原子吸收光谱仪(AAS)、电感耦合等离子体发射光谱仪(ICP-OES)或电感耦合等离子体质谱仪(ICP-MS)或其他适当的分析方法测定。

6.2 灭菌方式采用高温高压灭菌器或其他适宜灭菌方式

高温高压灭菌器必须通过灭菌确认，灭菌设备应处于良好的工作状态。

6.3 温控的水浴或恒温培养箱

控温能力为 (37 ± 1) °C。

6.4 带盖的容器

6.4.1 容器和盖均以不含镍且耐酸的非金属材料（如：玻璃、聚丙烯、聚四氟乙烯、聚苯乙烯等）制成。试样用非金属材料制成鱼线悬吊于磷酸盐缓冲盐溶液(PBS)中，以免试样测试面积(7.1.1)接触容器的底部或壁。容器的形状和大小的选择，应使所用磷酸盐缓冲盐溶液(PBS)能全部覆盖试样。

6.4.2 为了消除容器和鱼线中镍的干扰，容器和鱼线浸入稀硝酸贮存24 h以上进行预处理。预处理以后，以去离子水冲洗并干燥。

7 试样

7.1 试样测试面积

7.1.1 试样测试面积的定义

本文件中将试样的表面积定义为“试样测试面积”，单位为平方厘米（ cm^2 ）。

7.1.2 试样的确定

用于体外镍离子释放分析首选对终产品进行测试，若产品无法测试则选择试样，且试样与产品表面积具有等效性，具有表征意义的试样。

7.2 试样的清洗

试样与终产品的清洗方法保持一致。

注：这一清洗步骤，去除了试样表面可能存在的镍污染，避免了影响试样的镍释放。

7.3 试样的制备

用测定试样（见附录A）的镍释放量进行质量监控。

8 分析步骤

8.1 准备测试溶液

8.1.1 磷酸盐缓冲盐溶液（PBS）的制备

为维持溶液pH值的稳定，本文件中采用磷酸盐缓冲盐溶液（PBS）作为模拟生理溶液，其浓度为0.01 mol/L，pH为7.4。按《中国药典》2020年版四部3303鼠源性病毒检查法中给出一种磷酸盐缓冲盐溶液（PBS）的方法进行配制。配制后进行高温高压或其他适宜灭菌方式灭菌，磷酸盐缓冲盐溶液（PBS）灭菌之后，4℃冰箱密封保存备用。

8.1.2 浸提比例

浸提液体积和样品表面积比要足够大，同时又要保持检测灵敏度。推荐的样品表面积/浸提液体积比为（0.1~1） cm^2/mL 。计算所需浸提液体积时，需考虑镍离子的检出限、溶解度极限，且浸提液能完全浸没样品，有足够的浸提液用于测试。

8.1.3 浸提容器及辅助工具准备

测试开始前，需清洁容器及其他辅助工具，尽量减少容器和其它所有直接接触样品的污染可能。预先将水浴或恒温培养箱升高至（ 37 ± 1 ）℃。

8.2 释放过程

将试样用鱼线置于带盖容器内（6.4）加入适量的磷酸盐缓冲盐溶液（PBS），磷酸盐缓冲盐溶液（PBS）的加入量按照浸提比例（8.1.2）计算。试样应全部浸入磷酸盐缓冲盐溶液（PBS），记录试样测试面积和使用的磷酸盐缓冲盐溶液（PBS）量。用密闭的盖子封盖容器，以免磷酸盐缓冲盐溶液（PBS）挥发。将容器静置在温度稳定控制的水浴中或恒温培养箱内（6.3）于（ 37 ± 1 ）℃下，静置相应设置的时间点（8.4）后，从磷酸盐缓冲盐溶液（PBS）中取出试样并用少量去离子水冲洗，冲洗液并入浸提液中。将浸提液移入一个经过酸洗（稀硝酸）的大小适当的容量瓶中。容量瓶大小的选定应考虑测定镍离子的检测限。为了防止释放出的镍再沉淀，向溶液内加入适量稀硝酸，使其pH值降低到3以下。以去离子水稀释至刻度，混匀。

8.3 镍的测定

用分析光谱仪（6.1）测定测试溶液中的含镍量。

8.4 测定数量

只要可能，至少三个相同试样进行平行测定。根据骨植入物植入人体的时间，设定测试数量，设定的时间点为1 d、2 d、4 d、1周、2周、3周、4周每个时间点设1组空白试验和三个相同平行试样进行含镍量测定，试验将采用对同一器械进行多次浸提的方式。将试验样本和空白试验在温度稳定控制的水浴中或恒温培养箱内于（37±1）℃下静置，静置时间达到相应设定时间点时，取出3组平行试样和1组空白试验，按照释放过程（8.2）、镍的测定（8.3）进行样品的镍释放量的测定。再注入新溶液继续浸提，重复上述过程，直至完成所有设置时间点的浸提。

注：可根据骨植入物实际植入人体的时间，适当设置时间点和测试数量。

8.5 空白试验

与试样同时进行空白试验。使用的容器、鱼线和试验过程完全相同，只是容器内不加试样。使用等量的磷酸盐缓冲盐溶液（PBS）和等量的去离子水冲洗。

9 结果计算

9.1 镍释放量计算

样品的镍释放量 n ，数值以每个设置的时间点试样每平方厘米的微克数 $[\mu\text{g}/(\text{cm}^2 \cdot \text{d})]$ 表示，按公式（1）计算。计算结果保留到小数点后两位。

$$n = \frac{V(C_1 - C_2)}{1000ad} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

a ——试样测试面积，单位为平方厘米（ cm^2 ）；

V ——测试溶液的体积，单位为毫升（ mL ）；

C_1 ——相应设置时间点测试溶液中的镍浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；

C_2 ——相应设置时间点空白试验溶液中的镍浓度，单位为微克每升（ $\mu\text{g}/\text{L}$ ）；

d ——相应设置时间点样品的实际浸提天数。

9.2 总累积镍释放量

试验周期内镍离子的总累积释放量，为每个时间点释放的镍离子含量之和，单位为 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。

10 试验报告

- 10.1 样品的鉴别，包括类别、来源、状态、批号、唯一性标识、照片、接样日期、形状。
- 10.2 参考标准（包括发布或出版年号）。
- 10.3 准备过程，包括浸提液、pH值、浸提温度、开始浸提时间和试验环境条件等。
- 10.4 样品表面积（ cm^2 ）。
- 10.5 使用的浸提液及其体积，浸提比例的说明。
- 10.6 样品在试验周期内对应时间点镍释放量，以及每天的镍释放量。
- 10.7 浸提时间点、镍离子的测定日期。

- 10.8 如果必要，需有此标准方法的偏差。
- 10.9 测试过程中任何异常情况的记录。
- 10.10 完成分析的实验室签章。
- 10.11 实验室负责人及操作人员签名。

附录 A
(资料性)
试样的制备

A.1 试样的材料

试样的材料为镍钛形状记忆合金。

A.2 试样的化学成分

试样的学成分见表A.1。

表A.1 试样的化学成分

元素	质量分数 (%)
镍 (Ni)	54.5~57.0
碳 (C)	≤0.040
钴 (Co)	≤0.050
铜 (Cu)	≤0.010
铬 (Cr)	≤0.010
氢 (H)	≤0.005
铁 (Fe)	≤0.050
铌 (Nb)	≤0.025
氮 (N)	≤0.005
氧 (O)	≤0.040
钛 (Ti)	余量

A.3 试样的制备

试样应与骨植入物具有同材料且为同一批号，相同的生产工艺。

A.4 试样的表面粗糙度

试样的表面粗糙度应与骨植入物表面粗糙度要求等级最低的保持一致。且试样表面粗糙度Ra最大允许值为1.6 μm。

A.5 试样的类型

试样的类型见表A.2。

表A.2 试样的类型

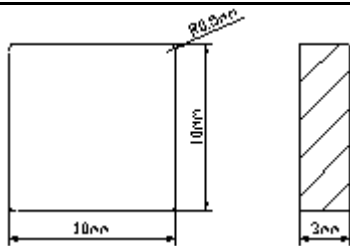
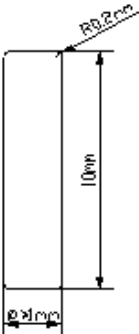
骨植入物产品类型	试样类型
板材	

表 A.2 试样的类型（续）

骨植入物产品类型	试样类型
线材	 <p>The diagram illustrates a wire specimen with the following dimensions: a diameter of $\varnothing 1\text{mm}$, a length of 10mm, and a chamfered top edge with a radius of $R0.2\text{mm}$.</p>

参 考 文 献

中华人民共和国药典 2020年版
