ICS 11.120.20

中国医疗器械行业协会团体标准

T/CAMDI 061—2021

增材制造金属植入物残留颗粒生物学危害评价标准

Standard for evaluating the biological hazards of residual particles in additive manufactured metal implant

2021-08-11 发布

2021-08-12 实施

中国医疗器械行业协会 发布

目　　次

前　言

本文件参照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。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由中国医疗器械行业协会增材制造医疗器械专业委员会提出并归口。

本文件起草单位：大博医疗科技股份有限公司、湖南华翔增量制造股份有限公司、上海浦卫医疗器械厂有限公司、麟科泰医疗技术(无锡)有限公司。

本文件主要起草人：于君霞、邹炜民、丁伟、薛昊。

本文件指导专家：卢秉恒、戴尅戎、王迎军、王金武（组长）、丁焕文、袁暾、张洪波、韩建民、吴甲民、杭飞、徐昕荣、朱睿、郑朋飞。

本文件首次发布于2021年。

引　言

目前增材制造金属植入物主要以金属粉末为原料，通过以激光或电子束作为能量源的粉末床熔融工艺生产。由于粉床和整体工艺因素，导致植入物存在颗粒残留。残留颗粒进入人体可能会导致一系列损害邻近和远处组织的生物学反应。为探究残留颗粒在激发这些生物学反应中起到的作用，需要确立评价方法。虽然GB/T 16886医疗器械生物学评价系列标准中给出了相关方法，但它并未针对增材制造金属植入物的特定风险提出相关评价策略。结合GB/T 16886系列标准及已有的相关行业标准、审查指导原则、相关文献和分析验证，本标准对增材制造金属植入物残留颗粒的生物学危害评价进行了规定。通过确立严谨的残留颗粒生物学危害评价方法，让增材制造金属植入物生产厂商在进行产品的安全性评价时有据可依，从而提高增材制造金属植入物的安全性，促使增材制造金属植入物领域安全高效地发展。

增材制造金属植入物残留颗粒生物学危害评价标准

1 范围

本标准为系统性地开展增材制造金属植入物残留颗粒生物学危害研究提供指导，从而达到评价其生物学危害的目的。

本标准适用于以金属粉末为原料，通过以激光或电子束为能量源的粉末床熔融工艺生产的与骨组织接触的植入医疗器械残留颗粒的生物学危害评价。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件；不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

GB/T 13810 外科植入物用钛及钛合金加工材

GB/T 15076（所有部分） 钽铌化学分析方法

GB/T 16886 《医疗器械生物学评价》系列标准

GB/T 19077 粒度分布 激光衍射法

GB/T 34486 激光成型用钛及钛合金粉

GB/T 35351 增材制造 术语

GB/T 36984 外科植入物用多孔金属材料X射线CT检测方法

GB/T 38971 增材制造用球形钴铬合金粉

GB/T 39251 增材制造 金属粉末性能表征方法

GB/T 4698（所有部分） 海绵钛、钛及钛合金化学分析方法

YY/T 0651.2 外科植入物 全髋关节假体的磨损 第2部分：测量方法

YY/T 0652 植入物材料的磨损 聚合物和金属材料磨屑 分离和表征

YY/T 1701 用于增材制造的医用Ti-6Al-4V/Ti-6Al-4V ELI粉末

YY/T 1702 牙科学 增材制造 口腔固定和活动修复用激光选区熔化金属材料

YY/T XXX 医用增材制造 粉末床熔融成形工艺金属粉末清洗及清洗效果验证方法

T/CAMDI 042 医用增材制造钽金属粉末

T/CSBME 008 基于金属粉末床熔融技术增材制造植入医疗器械 残留不溶颗粒物评价方法

ISO 19227 Implants for surgery - Cleanliness of orthopedic implants - General requirements

ASTM F561 Standard Practice for Retrieval and Analysis of Medical Devices, and Associated Tissues and Fluids

ASTM F660 Standard Practice for Comparing Particle Size in the Use of Alternative Types of Particle Counters

ASTM F1877 Standard Practice for Characterization of Particles

ASTM F1903 Standard Practice for Testing for Biological Response to Particles In Vitro

ASTM F1904 Standard Practice for Testing the Biological Responses to Particles In Vivo

ASTM F2459 Standard Test Method for Extracting Residue from Metallic Medical Components and Quantifying via Gravimetric Analysis

ASTM F2847 Standard Practice for Reporting and Assessment of Residues on Single Use Implants

ASTM F3049 Standard Guide for Characterizing Properties of Metal Powders Used for Additive Manufacturing Processes

ASTM F3335 Standard Guide for Assessing the Removal of Additive Manufacturing Residues in Medical Devices Fabricated by Powder Bed Fusion

3 术语和定义

GB/T 35351和GB/T 16886界定的以及下列术语和定义适用于本文件。

3.1 增材制造 Additive manufacturing

以三维模型数据为基础，通过材料堆积的方式制造零件或实物的工艺。[GB/T 35351-2017，定义2.1.1]

3.2 残留颗粒 Residual particles

增材制造及后处理残留的或容易脱落的具有不同尺寸任意形状的离散固态颗粒物，包括原材料粉末、喷砂介质和其他碎屑等。

3.3 生物学危害 Biological hazard

残留颗粒在宿主的特定环境和部位、与宿主组织直接或间接接触对其产生的危害。

4 一般原则

4.1 本标准参照 YY/T XXX《医用增材制造 粉末床熔融成形工艺金属粉末清洗及清洗效果验证方法》（征求意见稿）建议的方法充分清洗及验证后的增材制造金属植入物残留颗粒的剩余生物学危害风险进行评价。

4.2 宜根据 GB/T 16886 先进行增材制造金属植入物的生物学评价研究。

4.3 宜考虑增材制造金属植入物生物学评价研究的结果，以便确定用于残留颗粒生物学危害研究的方法。还要考虑颗粒的理化性能方面的信息。

4.4 进行残留颗粒生物学危害研究时，本标准使用者宜根据产品特点来设计适合的获取残留颗粒的方法，可参考附录 A 及相关行业标准规定的方法。

4.5 优先使用体外研究方法进行评价。

5 增材制造金属植入物残留颗粒生物学危害评价要求

5.1 残留颗粒理化性能要求

5.1.1 化学成分

对残留颗粒的评价，应先明确加工工艺过程可能引入的颗粒或新形成的颗粒。目前增材制造工艺及后处理产生的不溶颗粒物质包括原材料金属粉末、喷砂介质和其它碎屑等。残留颗粒的化学成分要求按照相关材料标准执行。

5.1.2 形貌

应对颗粒的形貌进行描述，如球形或球状、颗粒状、不规则、碎片、纤丝状、尖状等。

5.1.3 数量

用于生物学危害评价的残留颗粒数量可通过重量法或溶液悬浮浓度法体现。若采用重量法，可取若干件不同批次的增材制造金属植入物，经由已验证的方法获取残留颗粒并称重后，按件数取重量平均值即为单件植入物的残留颗粒重量；若采用溶液悬浮浓度法，可取若干件不同批次的增材制造金属植入物，经由已验证的方法获取残留颗粒并将其混合于一定体积的生理盐水中，按件数取单位体积内悬浮物的平均含量即为残留颗粒浓度。

为避免外来颗粒污染样品，所有的试剂溶液在使用前均应采用0.22μm或更小孔径的滤膜进行过滤。

5.1.4 尺寸和尺寸分布

应明确残留颗粒的尺寸及其分布情况。

5.2 残留颗粒体外细胞学危害要求

5.2.1 细胞毒性

参考GB/T 16886.5中细胞毒性的评价标准。

5.2.2 炎性反应

试验样品引发的炎性反应不强于对照组材料。

5.2.3 对破骨细胞的影响

试验样品对破骨细胞的影响不强于已确立临床可接受性的对照组材料。

5.3 残留颗粒动物体内生物学危害要求

5.3.1 邻近组织

采用原位植入模型，对试验样品与对照样品的生物学反应进行比较，参照 GB/T 16886.6 的规定进行评价。

5.3.2 远处组织

采用异位植入模型，参照GB/T 16886.6和GB/T 16886.11的规定进行评价。

6 增材制造金属植入物残留颗粒生物学危害评价方法

6.1 取样

本标准使用者宜根据产品特点来设计适合的获取残留颗粒的方法，可参考附录A和相关行业标准规定的方法。

6.2 残留颗粒理化性能检测

6.2.1 化学成分检测方法

应采用现有的ISO标准或国家、行业标准推荐的方法进行相应材料化学成分检测。

6.2.2 形貌

参照YY/T 0652中对金属磨屑尺寸和形状表征的方法进行，如扫描电子显微镜（SEM）、透射电子显微镜（TEM）等。

6.2.3 数量

参考YY/T 0652中的规定，采用全自动激光粒度测试仪、扫描电子显微镜（SEM）或透射电子显微镜（TEM）进行计数。

6.2.4 尺寸和尺寸分布

参考标准GB/T 19077和YY/T 0652中的规定进行。

6.3 残留颗粒体外细胞学危害检测

6.3.1 细胞毒性检测

6.3.1.1 本实验系统将 6.1 收集的残留颗粒接触培养细胞，通过对细胞形态、增殖和抑制影响的观察，评价供试品对细胞的毒性作用。

6.3.1.2 参考 GB/T 16886.5 的规定进行对照组的设置。

6.3.1.3 在对照组产生预期反应的情况下，根据 GB/T 16886.5 分析判定供试品细胞毒性反应程度。

6.3.2 炎性反应

6.3.2.1 本实验系统将 6.1 收集的残留颗粒接触培养细胞，通过对炎症细胞因子的观察，评价供试品的炎症反应情况。

6.3.2.2 可靠的试剂或试剂盒可用于检测炎症细胞因子，如 TNFα、TGF-β、IL-1、IL-1 受体拮抗剂、超氧化物或一氧化氮（NO）等。应测定至少两种炎症细胞因子释放。

6.3.2.3 应结合炎症细胞因子达到峰值的时间来明确共培养时间。

6.3.2.4 阴性对照样品可采用经确认过的不产生炎症反应的材料。

6.3.2.5 在对照组产生预期反应的情况下，分析判定供试品激发炎症反应的程度。

6.3.3 对破骨细胞的影响

6.3.3.1 检测残留颗粒对破骨细胞的增殖及一般形态的影响可参照 GB/T 16886.5 的规定进行评估。

6.3.3.2 检测残留颗粒对破骨细胞的骨吸收功能，可采用骨吸收陷窝形态分析法、Ca^{2+}浓度检测法（如Ca^{2+}敏感电极技术、原子吸收光谱法、同位素标记法、荧光素标记法等）、ELISA 检测 I 型胶原降解标志物或经确认的其它方法。

6.4 残留颗粒动物体内生物学危害检测方法

6.4.1 原位动物模型

6.4.1.1 植入样品制备

试验和对照样品的常规制备参照GB/T 16886.6的规定。

6.4.1.1.1.1 实验动物和植入部位

将准备好的植入样品直接植入产品相对应的解剖部位，具体可参照GB/T 16886.6的相关规定。

6.4.1.1.1.2 植入步骤

参照GB/T 16886.6的规定。

6.4.1.1.1.3 植入周期

参照GB/T 16886.6的规定。

6.4.1.1.1.4 生物学反应评价

参照GB/T 16886.6的规定。

6.4.1.2 异位动物模型

6.4.1.2.1 气囊模型

气囊模型是研究炎症的常用模型，也常作为一种对骨科生物材料较敏感的体内模型，用来检验微粒刺激引起的细胞和炎症反应，试验方法可参照参考文献[7]-[17]。

6.4.1.2.2 直接注射

推荐腹膜内、肌肉和皮下途径，具体可参照GB/T 16886.11的规定。

附 录 A
（资料性）
残留颗粒制备方法

A.1 替代法

分别选取适量加工用金属粉末原材料和喷砂用原材料做为加工和后处理的残留颗粒替代物。

A.2 超声法

参考YY/T 0651.2的方法，在清洗工序过程中，产品使用超声震荡方式反复多次清洗，每次清洗后更换清洗用水，过程中使用0.22μm孔径的滤膜过滤清洗液，再将滤膜烘干处理，收集干燥后各滤膜上的残留颗粒。

A.3 力学负载

将产品或试件装载到疲劳试验机中，在疲劳失效前收集试验过程中产生的残留颗粒，如压缩疲劳、剪切疲劳、扭转疲劳等。

参 考 文 献

[1] ASTM WK60265 New Guide for Assessing the Removal of Additive Manufacturing Residues in Medical Devices Fabricated by Powder Bed Fusion
[2] Li C, Jiang C, Peng M, et al. Proinflammatory and osteolysis-inducing effects of 3D printing Ti6Al4V particles in vitro and in vivo[J]. RSC Advances, 2018, 8.
[3] Wang ML, Sharkey PF, Tuan RS. Particle bioreactivity and wear-mediated osteolysis. J Arthroplasty. 2004;19(8):1028-1038.
[4] Pajarinen J, Kouri V P, J Msen E, et al. The response of macrophages to titanium particles is determined by macrophage polarization[J]. Acta Biomaterialia, 2013, 9(11):9229-9240.
[5]Gelb H, Schumacher H R, Cuckler J, et al. In vivo inflammatory response to polymethylmethacrylate particulate debris: effect of size, morphology, and surface area[J]. Journal of Orthopaedic Research Official Publication of the Orthopaedic Research Society, 2010, 12(1):83-92.
[6] Sukur E, Akman Y E, Ozturkmen Y, et al. Particle Disease: A Current Review of the Biological Mechanisms in Periprosthetic Osteolysis After Hip Arthroplasty[J]. Open Orthopaedics Journal, 2016, 10(1):241-251.
[7] 唐荣亮，陈爱霞，邢敬龙,等. 小鼠皮下气囊慢性炎症模型的建立[J]. 天津医科大学学报, 2012(01):40-43.
[8] 陶崑，沈灏，张先龙,等. 植骨气囊在人工关节松动动物模型实验研究中的应用[J]. 中华关节外科杂志(电子版), 2008, 2(003):287-294.
[9] 赵江博，李燕，田佳宁,等. 扫描电子显微镜下观察磨损颗粒刺激小鼠气囊植骨模型诱导骨溶解的超微病理改变[J]. 宁夏医学杂志, 2019, 41(03):6+25-27.
[10] 赵江博，李燕，田佳宁,等. 磨损颗粒诱导骨溶解的两种动物模型形态学比较研究[J]. 实用骨科杂志, 2019, 25(01):48-51.
[11] 张晨，李燕，郭凤英,等. 磨损颗粒刺激小鼠air pouch气囊建立骨溶解动物模型的实验研究[J]. 宁夏医学杂志, 2019(7):577-580.
[12] 董子漾，赵江博，马宁,等. 超高分子量聚乙烯诱导小鼠植骨气囊骨溶解模型的构建[J]. 宁夏医科大学学报, 2020(1):56-59.
[13] 耿德春，徐耀增，朱雪松,等. 钛颗粒诱导小鼠骨溶解模型的评价[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(022):4223-4226.
[14] 刘铭，魏小兰，陈婷梅,等. 盐溶法构建磨损颗粒诱导小鼠颅骨溶解模型方法的建立及评价[J]. 吉林大学学报(医学版), 2013, 39(005):185-188+236.
[15] 陈德胜，李燕，郭凤英,等. 钛颗粒诱导小鼠植骨气囊骨溶解模型的构建[J]. 宁夏医科大学学报, 2016(11).
[16] 陶崑，沈灏，张先龙,等. 植骨气囊在人工关节松动动物模型实验研究中的应用[J]. 中华关节外科杂志(电子版), 2008, 2(003):287-294.
[17] Ren W, DC Markel, Schwendener R, et al. Macrophage depletion diminishes implant-wear-induced inflammatory osteolysis in a mouse model[J]. Journal of Biomedical Materials Research Part A, 2010, 85A(4):1043-1051.