

中华人民共和国医药行业标准

YY/T 1404—2016



含铜宫内节育器用铜的技术 要求与试验方法

Requirements and tests for copper used for IUD

2016-03-23 发布

2017-01-01 实施



国家食品药品监督管理总局 发布

前 言

本标准按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

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这些专利的责任。

本标准由国家计划生育器械标准化技术委员会(SAC/TC 169)提出并归口。

本标准起草单位:上海交通大学医学院附属第九人民医院、上海市医疗器械检测所。

本标准主要起草人:孙皎、姚天平、丁婷婷、陆华、邹凤平。

含铜宫内节育器用铜的技术 要求与试验方法

1 范围

本标准规定了含铜宫内节育器用铜的化学成分、要求和试验方法。
本标准适用于含铜宫内节育器使用的铜管和铜丝原材料。

2 规范性引用文件

下列文件对于本文件的应用是必不可少的。凡是注日期的引用文件,仅注日期的版本适用于本文件。凡是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 5121.27—2008 铜及铜合金化学分析方法 第 27 部分:电感耦合等离子体原子发射光谱法

GB/T 16886.12 医疗器械生物学评价 第 12 部分:样品制备与参照样品(GB/T 16886.12—2005,ISO 10993-12:2002,IDT)

3 化学成分

按照第 5 章规定的方法进行试验,铜的最小含量 99.99%。其中单项杂质金属含量不大于表 1 的规定。

表 1 杂质金属含量

单位为微克每克

单项金属	最大限量	单项金属	最大限量
铅(Pb)	5	碲(Te)	3
镉(Cd)	1	锑(Sb)	4
铁(Fe)	10	砷(As)	5
镍(Ni)	10	磷(P)	3
铋(Bi)	2	银(Ag)	25
锡(Sn)	2		

4 要求

4.1 铜的纯度

4.1.1 铜原材料中铜含量应符合第 3 章的规定。

4.1.2 铜原材料杂质金属含量应符合表 1 的规定。

4.2 表面质量

4.2.1 铜原材料表面应洁净,无污泥、油污等污染物。

4.2.2 铜原材料表面应光滑,不应有裂纹、起皮、毛刺、粗拉道现象。

4.3 铜丝直径

如果使用铜丝,铜丝的标称直径一般应不小于 0.25 mm。当铜丝被包裹于金属或塑料内,则铜丝的标称直径由制造商规定。

4.4 铜离子释放

制造商应给出铜原材料在体外模拟宫腔液浸泡后的铜离子释放量。

4.5 细胞毒性评价

制造商应给出铜原材料浸提液的细胞活力大于 70%时的稀释倍数。

5 试验方法

5.1 铜的纯度

化学成分应在原材料上取样,按 GB/T 5121.27—2008 的方法或用已认可的用于化学分析的方法进行试验,应符合 4.1.1 和 4.1.2 的要求。

5.2 表面质量

用目力观察并用手拭摸,应符合 4.2.1、4.2.2 的要求。

5.3 铜丝直径

用通用或专用量具进行测量,应符合 4.3 的要求。

5.4 铜离子释放

按附录 A 的方法进行试验,应符合 4.4 的要求。

5.5 细胞毒性评价

按附录 B 的方法进行试验,应不大于 4.5 要求的稀释倍数。

附录 A
(规范性附录)
铜离子释放试验方法

A.1 目的

测定含铜宫内节育器用的铜原材料在模拟宫腔液下的铜离子释放量。

A.2 设备

恒温箱(温度波动不大于 $\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$)、电冰箱、离心机、电感耦合等离子体原子发射光谱仪(ICP)、原子吸收光谱仪(AAS)、超净工作台。

A.3 试剂

氯化钠(AR)、氯化钾(AR)、氯化钙(AR)、碳酸氢钠(AR)、葡萄糖(AR)和二水合磷酸二氢钠(AR)、浓盐酸(37%, AR)、浓硝酸(65%, GR)氢氧化钠(AR)。

A.4 模拟宫腔液制备

用去离子水分别溶解 4.97 g 氯化钠、0.224 g 氯化钾、0.167 g 氯化钙、0.25 g 碳酸氢钠、0.50 g 葡萄糖和 0.072 g 二水合磷酸二氢钠,置于 1 000 mL 的容量瓶中,再用去离子水稀释至约 980 mL 左右,并用 1.0 mol/L 的 HCl 稀溶液或 1.0 mol/L 的 NaOH 稀溶液将 pH 调至 7.0 ± 0.1 ,最后用去离子水定容。

A.5 浸泡液制备

在无菌条件下,分别将含铜宫内节育器用的铜(铜管或铜丝)放入模拟宫腔液中,其浸泡比例参照 GB/T 16886.12. 当铜原材料样品的厚度小于 0.5 mm,按铜原材料表面积与浸提介质之比为 $6\text{ cm}^2/\text{mL}$ 的要求,经 100 倍稀释后置于 $37.0\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 恒温箱中浸泡。1 周内每天换液,第 2 周至第 4 周每周更换 2 次液(换液时间分别为第 10 天、14 天、17 天、21 天、24 天和 28 天),之后每周换一次液(分别为第 35 天、第 42 天、第 49 天和第 56 天)。收集所有更换下来的液体,1 500 r/min 离心 5 min。然后取上清液于 $0\sim 4\text{ }^{\circ}\text{C}$ 冰箱内冷藏,同时设置单独的模拟宫腔液为空白对照。

注:若铜原材料样品的厚度大于 0.5 mm,则铜原材料与浸提介质之比参照 GB/T 16886.12 表 1 的规定。

A.6 铜离子浓度测定

采用 ICP 法或 AAS 法测定 1 周内每天以及第 10 天、第 14 天、第 17 天、第 21 天、第 24 天、第 28 天、第 35 天、第 42 天、第 49 天和第 56 天更换下来的液体以及空白的模拟宫腔液中的铜离子浓度。

A.7 结果分析

根据测得的铜离子浓度,计算在 10 mL 体积时的铜离子释放量,绘制从第 1~7 天每日铜离子释放量曲线,以及第 8~10 天、第 11~14 天、第 15~17 天、第 18~21 天、第 22~24 天、第 25~28 天、第 29~35 天、第 36~42 天、第 43~49 天和第 50~56 天时日均铜离子释放曲线。记录 1 周内单天铜离子最大释放量和单天铜离子最小释放量,以及第 29~56 天的铜离子日平均释放量。

A.8 报告内容

试验报告应至少包括下列各项内容:

- a) 样品的识别(样品量、样品批号);
- b) 样品到达实验室的日期(如果适用);
- c) 第 1~7 天每日铜离子释放量,以及第 8~10 天、第 11~14 天、第 15~17 天、第 18~21 天、第 22~24 天、第 25~28 天、第 29~35 天、第 36~42 天、第 43~49 天和第 50~56 天时日均铜离子释放曲线。(其中 x 轴为天数, y 轴为铜离子日/日均释放量);
- d) 1 周内单天铜离子最大释放量、1 周内单天铜离子最小释放量;
- e) 第 29~56 天的铜离子日平均释放量。

附 录 B
(规范性附录)
MTT 细胞毒性试验方法

B.1 目的

测定含铜宫内节育器用的铜原材料的细胞毒性。

B.2 设备

超净工作台、二氧化碳(CO₂)培养箱、生物安全柜、酶标仪(配置 570 nm 滤光片,参照 650 nm);移液器。

B.3 试剂

最低限量基本培养基(MEM,不含酚红、谷氨酰胺和碳酸氢钠)、小牛血清(BCS)、胰蛋白酶/EDTA 溶液、MTT[3-(4,5-二甲基噻唑-2)-2,5-二苯基四氮唑溴盐]、异丙醇(AR)等。

B.4 溶液制备**B.4.1 培养基**

用基本培养基 MEM 配制含 10% BCS、4.0 mM 谷氨酰胺、100 IU/mL 青霉素、100 μg/mL 链霉素的完全培养基,在 4 ℃ 保持,并且贮存不超过两周。

B.4.2 MTT 溶液

MTT 新鲜溶于不含酚红的 MEM 中,浓度为 1.0 mg/mL。溶液采用注射过滤器(孔径≤0.22 μm)经无菌过滤法除菌。溶液宜当天使用。

B.4.3 样品浸提液

参照 GB/T 16886.12,选择含 10% BCS 的最低限量基本培养基为浸提介质。当铜原材料样品的厚度小于 0.5 mm,则按铜原材料与浸提介质之比为 6 cm²/mL,在含 5%(体积分数)CO₂、37.0 ℃±2 ℃ 温度下浸提 24 h,24 h 后对标准浸提液进行梯度稀释,进行 MTT 试验。

注:若铜原材料样品的厚度大于 0.5 mm,则铜原材料与浸提介质之比参照 GB/T 16886.12 表 1 的规定。

B.5 细胞系

采用 L929 细胞,细胞培养物应无支原体。

B.6 阴性材料和阳性材料选择

按 GB/T 16886.12 的要求选择阴性和阳性对照材料。

B.7 试验质量检查

未经处理空白的光密度(OD 570)绝对值可表明,在试验的两天内以每孔 1×10^4 接种的细胞是否以正常的倍增时间以指数方式增长。如空白 OD 570 平均值 ≥ 0.2 ,则试验符合接受标准。左、右两列空白平均值与全部空白平均值相差如不大于 15%,则试验符合接受标准。

B.8 试验方法

参照表 B.1 进行 MTT 试验。

表 B.1 MTT 细胞毒性试验操作流程

时间 h	步骤
00:00	接种 96 孔板: 1×10^4 个细胞/100 μ L MEM 培养基/孔 孵育(37 $^{\circ}$ C/5%CO ₂ /24 h) ↓
24:00	除去培养基 ↓
24:00	加入标准的浸提原液,以及倍比稀释后的不同浓度的浸提液,每 100 μ L/孔 (空白组=试验用培养基,阴性对照=高密度聚乙烯,阳性对照=苯酚) 孵育(37 $^{\circ}$ C/5%CO ₂ /24 h) ↓
48:00	除去培养基 加入 50 μ L MTT 溶液 孵育(37 $^{\circ}$ C/5%CO ₂ /2 h) ↓
50:00	除去 MTT 溶液 每孔加入 100 μ L 异丙醇 震荡滴定板 ↓
50:30	在 570 nm 测量吸光度(参照 650 nm)

B.9 数据分析

活细胞数减少是由于样品中代谢活性降低,这直接与生成的蓝紫色甲瓞量有关,在 570nm 测量光密度。按式(B.1)与空白等式比较计算各组存活率:

$$\text{存活率}(\%) = \frac{100 \times OD\ 570e}{OD\ 570b} \dots\dots\dots(B.1)$$

式中:

OD 570e —— 试验组、阴性对照和阳性对照组的光密度平均值;

OD 570b —— 空白光密度平均值。

计算试验组、阴性对照和阳性对照组的细胞活力,并给出试验组(铜原材料浸提液)细胞活力大于

70%时的稀释倍数。

B.10 报告内容

试验报告应至少包括下列各项内容：

- a) 样品的识别(样品量、样品批号)；
 - b) 试验开始和结束日期；
 - c) 细胞系选择和细胞来源；
 - d) 阴性对照材料和阳性对照材料；
 - e) 试验方法和原理；
 - f) 浸提条件和倍比稀释的浓度；
 - g) 给出所有稀释浓度的试验结果,并明确铜原材料浸提液细胞活力大于70%时的稀释倍数。
-

中华人民共和国医药
行业标准
含铜宫内节育器用铜的技术
要求与试验方法
YY/T 1404—2016

*

中国标准出版社出版发行
北京市朝阳区和平里西街甲2号(100029)
北京市西城区三里河北街16号(100045)

网址 www.spc.net.cn

总编室:(010)68533533 发行中心:(010)51780238
读者服务部:(010)68523946

中国标准出版社秦皇岛印刷厂印刷
各地新华书店经销

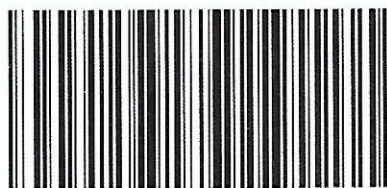
*

开本 880×1230 1/16 印张 0.75 字数 22 千字
2017年2月第一版 2017年2月第一次印刷

*

书号: 155066·2-31174 定价 18.00 元

如有印装差错 由本社发行中心调换
版权专有 侵权必究
举报电话:(010)68510107



YY/T 1404-2016