

中华人民共和国国家标准

GB/T XXXXX—XXXX

组织密度差的可吸收生物材料 体内降解率 测定 X 射线显微 CT 法

Absorbable/resorbable biomaterials characterized by different density
from surrounding tissue—Evaluation on the biodegradation in vivo—X-ray
microCT nondestructive testing method

草案稿

XXXX—XX—XX 发布

XXXX—XX—XX 实施

国家市场监督管理总局
国家标准化管理委员会 发布

目次

前言 II

引言 III

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 试验方法 2

 4.1 原理 2

 4.2 检测人员要求 2

 4.3 设备要求 2

 4.4 显微 CT 检测工艺流程 3

 4.5 标本放置 3

 4.6 设定扫描参数 3

 4.7 标本位置的确定 4

 4.8 扫描图像矩阵 4

 4.9 采样时间 4

 4.10 扫描测试 4

 4.11 图像重建 4

 4.12 图像质量要求 4

5 显微 CT 分析材料降解情况 5

 5.1 材料降解的定性分析 5

 5.2 兴趣区域选择 5

 5.3 具有组织密度差的植入物降解率计算 5

 5.4 具有组织密度差的植入物单位体积比表面积计算 5

 5.5 具有组织密度差的植入颗粒物平均粒计算 6

 5.6 具有组织密度差的植入颗粒物颗粒数量计算 6

 5.7 具有组织密度差的植入颗粒物颗粒分离度计算 6

附录 A （资料性）口腔煅烧骨粉体内降解情况的显微 CT 检测方法（示例） 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。

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。

本文件由国家药品监督管理局提出。

本文件由全国医疗器械生物学评价标准化技术委员会（SAC/TC 248）归口。

本文件起草单位：

本文件主要起草人：

引 言

目前评价材料降解性能的方式主要由体外和体内两种，体外降解虽能在一定程度上反映材料在模拟体液中的降解行为，但不能真实地反映在体效果。而在体内降解实验中，研究者通常采用处死实验动物后行植入物称重、测量和组织病理染色测面积等方式观察材料在体内的降解行为。但材料降解主要是观测材料降解前后体积的变化，而称重只能通过质量变化间接反映体积变化，而且在体降解后的材料混杂了大量的机体组织（如新生骨、结缔组织等），难于精确评估材料质量变化；此外，由于降解材料其外观不规则，通过测量也仅能粗略判断降解材料的体积变化。虽然组织切片染色测面积方式可精确测量某一材料断层的面积，但考虑到切片的组织损耗，这种方法难于将所有降解材料断层面积汇总计算，仅能通过某几层切片面积对降解材料体积做估算，而且该方法费时费力，且对组织有破坏性。

显微CT（micro computed tomography, micro CT），又称微型CT，是一种非破坏性的3D成像技术，可在不破坏样本的情况下清楚了解样本的内部显微结构。它与普通临床CT最大的差别在于分辨率极高，可达到微米（ μm ）级别，能清晰地分辨出具有密度差异的细微成份，配合仪器的分析软件，可实现对材料体积、粒径、数量、分离度等数据的无损精确观测。

组织密度差的可吸收生物材料 体内降解率测定 X 射线显微 CT 法

1 范围

本文件规定了用于具有组织密度差的可吸收生物材料体内降解情况的 X 射线显微 CT 检测方法的术语和定义、方法原理、检测人员要求、设备要求、显微 CT 检测工艺流程、图像质量要求、具有组织密度差的可吸收生物材料体内降解情况的定性和定量分析等。

本文件适用于评价与植入物周围组织存在显著组织密度差异的可吸收生物材料降解性能。如：钙磷硅类人工骨、异种骨、金属材料、可降解金属膜、显影高分子材料等。

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 9445 无损检测 人员资格鉴定与认证

GB/T 29034 无损检测 工业计算机层析成像（CT）指南

GB/T 29069 无损检测 工业计算机层析成像（CT）系统性能测试方法

GB/T 29070 无损检测 工业计算机层析成像（CT）检测 通用要求

GB/T 35839—2018 无损检测 工业计算机层析成像（CT）密度测量方法

GB/T 36984—2018 外科植入物用多孔金属材料 X 射线 CT 检测方法

GB/T 16886.9—2022 医疗器械生物学评价 第 9 部分：潜在降解产物的定性和定量框架

YY/T 1576—2017 组织工程医疗器械产品 可吸收材料植入试验

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

显微 CT 检测 microCT testing

通过 X 射线束或 γ 射线束，在对检测物体无损伤条件下，以二维断层图像或三维立体图像的形式，高清、准确、直观地展示被检测物体的内部细微结构、组成、材质及缺损状况的技术。

3.2

兴趣区域 region of interest (ROI)

根据研究目的设定的 CT 分析区域，本标准中特指可吸收生物材料植入后所在的区域。

3.3

植入物初始量 initial material volume (IMV)

植入物植入前的总体积。

3.3

植入物剩余量 residual material volume (RMV)

植入物在组织内残留的总体积。

3.5

植入物降解率 material degradation rate (MDR)

植入物植入体内一定时间后降解的植入物体积占植入物初始量的百分比。

3.6

植入物单位体积比表面积 material specific surface of unit volume (MSSUV)

反映单位体积植入物的表面积大小。

注：MSSUV 是代表植入物降解的一个参数，即 MSSUV 越大，降解越严重。

3.7

植入颗粒物平均粒径 material average particle size (MAPS)

反映植入颗粒物降解前后的结构形态，解释降解情况变化。

注：MAPS 变化可影响降解率，在植入颗粒物数量一定的情况下，植入颗粒物平均粒径越大，降解率越低。

3.8

植入颗粒物颗粒数量 material average particle number (MAPN)

反映植入颗粒物降解前后的结构形态，解释降解情况变化。

注：MAPN 其变化可影响降解率，在植入颗粒物平均粒径一定的情况下，植入颗粒物数量越多，降解率越低。

3.9

植入颗粒物颗粒分离度 material average particle separation (MAPS)

植入颗粒物之间的平均距离，用来描述植入颗粒物结构形态。

注：与初始植入物颗粒分离度相比，颗粒物颗粒分离度越大，颗粒物之间距离越大，反映降解情况越严重。

4 试验方法

4.1 原理

本检测方法通过调节高精 X 射线源电压电流、曝光时间等参数发射出能量合适的射线，穿过具有组织密度差的可吸收生物材料，探测器对穿过的射线光子数和分布位置进行收集并转换成数字信号，计算机通过对收集到的信号进行分析和处理，完成投影重建，并通过专业的图像分析软件获得 CT 检测图像，再通过图像分割、三维重建、邻域生长和数学统计等图像分析手段和方法来获得受检样品的内部精细结构和体积，并通过与植入物初始量比较，从而实现对具有组织密度差的植入物的降解体积和降解率等参数的精准计算和无损检测。

显微 CT 原理见 GB/T 29034。

4.2 检测人员要求

从事具有组织密度差的可吸收生物材料体内降解情况的 X 射线显微 CT 检测操作的检测人员，应按照 GB/T 9445 接受培训和考核并取得相应的资格证书。

4.3 设备要求

4.3.1 设备组成

设备包括 X 射线显微 CT 设备以及图像处理系统。设备要求应符合 GB/T 29034 和 GB/T 29070 的要求。

4.3.2 X 射线显微 CT 设备

X 射线显微 CT 设备的性能指标应满足：

- 选用探测器的单像素探元尺寸要求不大于 50 μm ；
- 选用探测器最高可承受射线能量值大于检测使用的能量值；

- c) 选用探测器成像面积符合检测工艺的要求;
- d) 选用探测器动态范围不低于 10000:1;
- e) 图像灵敏度宜采用线型像质计进行测定, 线型像质计的型号和规格符合 GB/T 24901.1 的规定;
- f) 图像分辨率宜采用双线型像质计进行测定, 双线型像质计的型号和规格符合 GB/T 23901.5 的规定;
- g) 信噪比符合 NB/T 47013.11 的规定。
- h) 其余的指标应满足 GB/T 29034 和 GB/T 29070 的要求。

4.3.3 图像处理系统

4.3.3.1 图像处理系统主要包括计算机硬件和软件。

4.3.3.2 计算机硬件配置应能满足 CT 图像的存储、运算处理要求, 推荐使用工作站级别及以上的硬件配置。

4.3.3.3 图像软件至少应具有图像重建、图像显示、图像处理、图像测量、图像分析、三维可视化等基本功能, 以及植入物的识别与分割、植入物体积计算、植入物降解率计算、植入物三维重建等功能。

4.3.3.4 其余的要求应满足 GB/T 29070 的要求。

4.4 显微 CT 检测工艺流程

4.4.1 设备准备与校验

4.4.1.1 用于具有组织密度差的可吸收生物材料体内降解情况检测的显微 CT 系统应定期进行系统的空间分辨率、密度分辨率、射线源能量强度、成像几何关系等要素的校验工作, 每周不少于一次。

4.4.1.2 在设备安装调试、维修或更换部件后, 应对主要性能指标进行测试, 记录测试结果。

4.4.1.3 针对具体检测需要, 检测人员应按照规定对设备的实际检测能力进行校验。具体检测方法按照 GB/T 29069 进行。

4.4.2 系统自检与探测器校正

4.4.2.1 训机完毕后, 显微 CT 系统开始工作, 运动系统初始化, 系统自动完成自检及探测器校正过程。

4.4.2.2 探测器校正严格按照使用说明书操作, 在检测工艺条件下进行暗场亮场、偏置增益、坏像素校正, 建立较好的成像条件。

4.4.2.3 当有重要参数改动(如焦距、电压电流等)时, 应在新的扫描条件下校正探测。

4.4.2.4 对于有校正模型的检测工艺, 可以调用制作好的各校正文件。

4.4.2.5 亮场或增益校正时, 推荐的经验灰度值约为探测器饱和值的 80%。

4.5 标本放置

4.5.1 根据被扫标本大小、检测部位及 CT 设备的具体情况, 确定标本放置位置及方向。

4.5.2 检测前, 确保标本被测部位完全在有效检测视场内, 有条件的可以对标本放置位置进行扫描前预览。同时标本尽量靠近射线源, 减小射线散射影响, 确保足够的放大比倍数, 有利充分发挥设备空间分辨能力。

4.5.3 将待检测标本吸干水份、稳定可靠地安装在固定的夹具上并置于扫描工作台上, 夹具选择应保证足够刚度的材料, 确保扫描过程中, 工件不会发生移位或颤动。

4.5.4 夹具材质选择应不影响到 CT 成像, 推荐选择碳纤维、硬泡沫、有机玻璃、聚丙烯、透气胶带等低密度材料来固定标本。

4.6 设定扫描参数

4.6.1 射线能量应确保能够有效地穿透被检标本，选择射线能量应考虑到被测标本的形状结构、尺寸、密度等特点，选择合适的射线能量，确保图像信噪比质量要求。

4.6.2 管电流选择：选择合适的管电流，确保图像信噪比质量要求。能量选择依据可由最大穿透位置图像灰度值判断，推荐灰度值不小于探测器饱和值的 10%。

4.6.3 焦点选择：在射线能量和强度允许的情况下，选择小焦点模式，以提高空间分辨率。

4.6.4 滤波选择：应采用滤波板预先滤波，降低射束硬化和射线散射的影响。本检测中可以选择不同厚度的 Cu、Fe、Al、Ta 等金属片进行滤波。

4.6.5 原则上，同一批次样品或者不同批次同样种属的样品应采用统一的扫描参数。

4.7 标本位置的确定

4.7.1 扫描时在视野允许条件下，应尽可能放置标本位于等效射束宽度（BW）最小位置，可获得高的空间分辨率。等效射束宽度按式（1）计算：

$$BW = \sqrt{\frac{d^2 + [a(M-1)]^2}{M}} \dots\dots\dots (1)$$

式中：

BW—等效射束宽度，单位是毫米（mm）；

M—检测用放大比；

a—焦点尺寸，单位是毫米（mm）；

d—探测器像元尺寸，单位是毫米（mm）。

4.7.2 对于平板探测器来说，由于中心像素偏差要小于边缘位置，所以应将扫描标本尽量放置在探测器中间位置。

4.8 扫描图像矩阵

显微 CT 系统一般具有多种扫描矩阵可供选择，如 512×512、1024×1024、2048×2048、3072×3072 等，主要根据测试的空间分辨率要求选择扫描图像矩阵，建议在考虑测试时间消耗的前提下选用较大扫描重建像素矩阵。

4.9 采样时间

根据扫描标本特点、材质、结构等特点分析所需空间分辨能力、密度分辨能力及检测效率并由此决定扫描时间。通过调节采样时间来调节由于射线源电压、电流设置引起的图像灰度变化。

4.10 扫描测试

输入扫描参数、重建参数、工艺参数及样品特殊信息后，开启射线源，进入自动扫描测试过程。

4.11 图像重建

图像重建可采用扫描后手动重建或自动重建两种模式。如标本存在高密度材料，重建时要充分考虑射线硬化校正等问题。

4.12 图像质量要求

4.12.1 对于均匀物质在 CT 图像上应有较好的均匀度。

4.12.2 图像应具有良好的对比度。

- 4.12.3 对于具有不同衰减系数的物质，在图像灰度级过渡上应具有明显的分界线，过渡边界不应模糊或图像灰度缓慢过渡。
- 4.12.4 对于标本内部微小的结构特征，在系统空间分辨能力范围之内，应能够清楚的识别，具体指的是具有组织密度差的可吸收生物材料的细微结构。
- 4.12.5 对于衰减系数差别较小的物质，系统应具有足够的密度分辨能力。
- 4.12.6 被测物体的几何结构在 CT 图像上应正确反映，不存在扭曲变形和模糊。
- 4.12.7 图像噪声不宜高于 20 dB。
- 4.12.8 图像显示分辨率应不低于 1920×1200 。
- 4.12.9 灰度等级应不小于 16 bit。

5 显微 CT 分析材料降解情况

5.1 材料降解的定性分析

使用显微CT重建后的图像观察植入部位具有组织密度差的可吸收生物材料是否发生降解，并对具有组织密度差的可吸收生物材料降解情况进行定性描述。

5.2 兴趣区域选择

根据研究目的，分析兴趣区域（ROI）为具有组织密度差的可吸收生物材料植入后所在的区域。

如果分析软件有软件自动拟合分析区域的功能，需要根据分析区域的精确度确定手动圈选区域的间隔层数。

通过调整阈值进行目标区域（如：具有组织密度差的可吸收生物材料）的圈选，确定圈选区域和目标区域的形状完全匹配，并记录该阈值。

对于同一批次样品，为保证评估客观性，建议使用同一阈值。但使用该阈值时，要评估圈选区域和目标区域的形状是否完全匹配，如匹配，则使用该阈值，如不匹配，则重新设定阈值，直到筛选到圈选区域和目标区域的形状完全匹配的阈值为止。

5.3 具有组织密度差的植入物降解率计算

采用图像分析系统分别定量分析具有组织密度差的植入物初始量、植入物剩余量，计算植入物降解率。并按式（1）计算植入物降解率（MDR）：

$$\text{MDR}(\%) = (1 - \text{RMV} / \text{IMV}) \times 100\% \quad \dots\dots\dots (2)$$

式中：

MDR—植入物降解率；

RMV—植入物剩余量，单位是立方毫米（ mm^3 ）；

IMV—植入物初始量，单位是立方毫米（ mm^3 ）。

5.4 具有组织密度差的植入物单位体积比表面积计算

具有组织密度差的植入物单位体积比表面积（MSSUV），简写为 δ ，单位 mm^{-1} 。反映单位体积植入物的表面积大小。是代表植入物降解的一个参数，即 δ 越大，降解越严重。

按式（2）计算植入物单位体积比表面积（ δ ）：

$$\delta = \frac{A}{V} \dots\dots\dots (3)$$

式中：

δ —植入物单位体积比表面积，单位毫米分之一（ mm^{-1} ）；

A —植入物总表面积，单位是平方毫米（ mm^2 ）；

V —植入物总体积，单位是立方毫米（ mm^3 ）。

5.5 具有组织密度差的植入颗粒物平均粒径计算

如果具有组织密度差的植入物为颗粒，则可通过显微 CT 计算植入颗粒物平均粒径。植入颗粒物平均粒径（MPS），单位 mm 。反映植入颗粒物降解前后的结构形态，解释降解情况变化。其变化可影响降解率，在植入颗粒物数量一定的情况下，植入颗粒物平均粒径越大，降解率越低。

5.6 具有组织密度差的植入颗粒物颗粒数量计算

具有组织密度差的植入颗粒物颗粒数量（MAPN），单位 mm^{-1} 。反映植入颗粒物降解前后的结构形态，解释降解情况变化。其变化可影响降解率，在植入颗粒物平均粒径一定的情况下，植入颗粒物数量越多，降解率越低。

5.7 具有组织密度差的植入颗粒物颗粒分离度计算

具有组织密度差的植入颗粒物颗粒分离度（MAPS），单位 mm 。指植入颗粒物之间的平均距离，用来描述植入颗粒物结构形态。与初始植入物颗粒分离度相比，颗粒物颗粒分离度越大，颗粒物之间距离越大，反映降解情况越严重。

附录 A (资料性附录)

口腔煅烧骨粉体内降解情况的显微 CT 检测方法（示例）

A.1 动物模型构建

可吸收生物材料植入实验推荐优先选择小鼠、大鼠、仓鼠或家兔等小型实验动物，给予特定研究的特殊考虑时，可以选择使用犬、山羊或绵羊等较大的实验动物。操作时，在严格无菌条件下，将被评价材料制成的最终样品植入其最相关的组织解剖部位。本方法以具有组织密度差的口腔煅烧骨粉植入大鼠颌骨骨缺损处的方法构建动物植入实验模型，并以此模型为例，列出评估具有组织密度差的口腔煅烧骨粉体内降解情况的显微 CT 检测方法 & 成像参数。

A.2 显微 CT 扫描和数据重建

将大鼠安乐死并取出下颌骨，福尔马林固定液固定 48 h。显微 CT 使用前先进行管电压校准和旋转中心校准，铝制滤波片厚度设定为 0.5 mm。之后将固定好的离体大鼠下颌骨取出，吸水纸吸干液体，放入显微 CT 标本仓中进行扫描。扫描前应使用激光进行粗定位，使缺损区域位于扫描视野的正中央。扫描参数为：电压 80 kV，电流 500 μ A，曝光时间 1500 ms，有效像素值为 8.89 μ m，整个扫描过程 1° 曝光一次，全程曝光 360 次。整个图像包含 1536 张有效像素值为 17.78 μ m 的断层图。二维图像通过三维重建软件重建为三维图像。

A.3 具有组织密度差的口腔煅烧骨粉体内降解情况的定性评估

通过比对观察具有组织密度差的口腔煅烧骨粉植入前后的显微 CT 影像，判断骨粉是否发生降解，粒径有无变化，数量有无增减等。通过图 1 可以看出，口腔煅烧骨粉呈现出亮白色，与周围组织密度存在明显差异，颗粒大小和形状不规则，聚集在缺损区域，表明骨粉部分出现降解。分布在骨粉颗粒周围编织状、板状且呈现暗白色的区域即为缺损区域的新生骨。

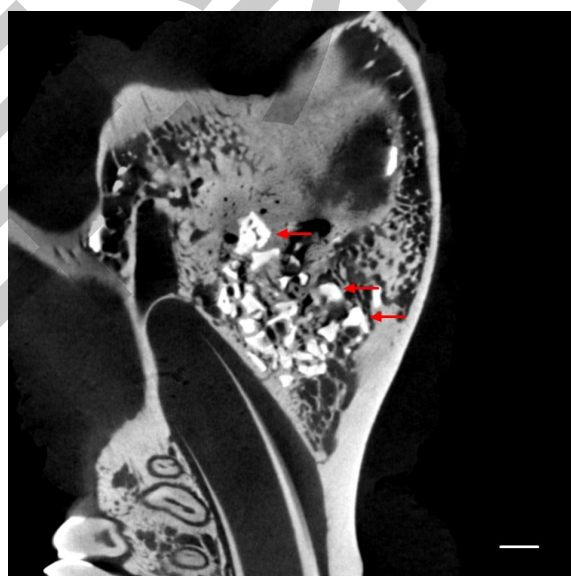


图 A.1 显微 CT 扫描大鼠下颌骨缺损区域平面图

注：图中亮白色且形状大小均不规则，与周围组织具有显著密度差异的颗粒即为口腔煅烧骨粉（红色箭头所示）。煅烧骨粉旁边的暗白色区域即为大鼠下颌骨缺损处的新生骨。标尺 = 1 mm。

A.4 具有组织密度差的口腔煅烧骨粉体内降解情况的定量评估

A.4.1 兴趣区域选择

使用分析软件的工具，圈选出直径 5 mm 的圆形缺损，并设定阈值（Threshold）> 3573，将具有组织密度差的口腔煅烧骨粉全部圈选出来（图 2 右图红色区域）。然后再通过计算，可定量分析口腔煅烧骨粉的降解情况。

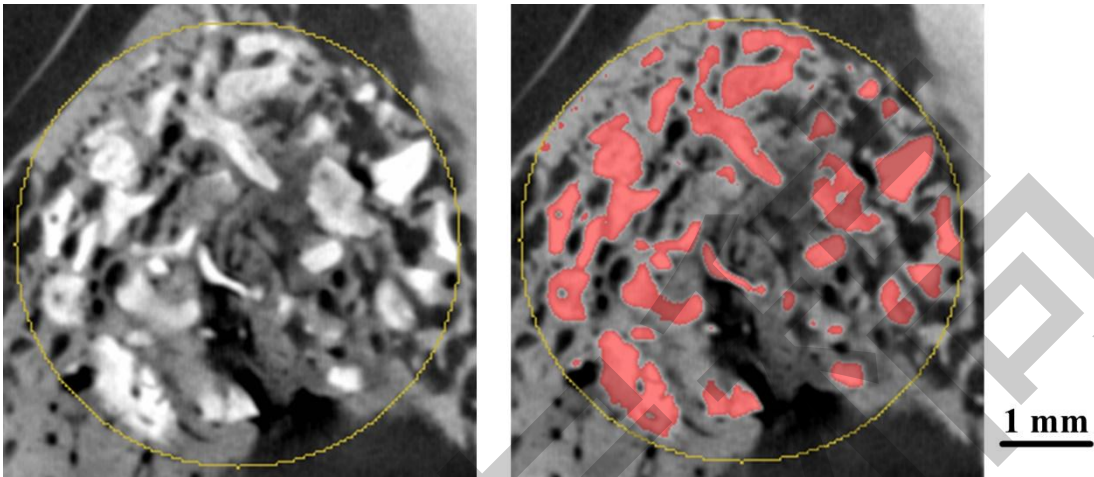


图 A.2 显微 CT 定量分析过程中的兴趣区域展示

注：图中黄色圆环所圈选的区域即为骨缺损区域（直径 5 mm）。通过阈值调整，可以使得具有组织密度差的口腔煅烧骨粉被精确地分离（右图红色区域），并通过分析软件的计算，简便快捷地定量评估骨粉降解情况。标尺 = 1 mm。

A.4.2 降解情况定量评估

五组具有组织密度差的口腔煅烧骨粉降解前后数据见表 1。由降解前后口腔煅烧骨粉体积可以得出降解率为 $31.04 \pm 0.21\%$ ，结合其他 4 个参数可以得出结论如下：口腔煅烧骨粉发生了明显降解，骨粉粒径出现了降低，但颗粒数量有一定的增加，这可能与骨粉颗粒发生崩解有关。

表 A.1 口腔煅烧骨粉降解前后数据汇总表

检测参数	降解前	降解后
体积 (mm^3)	3.013 ± 0.023	2.078 ± 0.235
单位体积比表面积 (mm^{-1})	18.328 ± 0.231	25.510 ± 0.412
平均粒径 (mm)	1.021 ± 0.011	0.078 ± 0.004
颗粒数量 (mm^{-1})	2.893 ± 0.121	3.308 ± 0.217
颗粒分离度 (mm)	0.201 ± 0.003	0.224 ± 0.004