ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО

ПО ТЕХНИЧЕСКОМУ РЕГУЛИРОВАНИЮ И МЕТРОЛОГИИ

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ГОСТ Р ИСО 17853— 2012

Имплантаты для хирургии

ИЗНОС ИМПЛАНТИРУЕМЫХ МАТЕРИАЛОВ ПОЛИМЕРНЫЕ И МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ ЧАСТИЦЫ ИЗНОСА

Выделение и характеристика

ISO 17853:2011
Wear of implant materials — Polymer and metal wear particles — Isolation and characterization
(IDT)

Издание официальное

Москва
Стандартинформ
2013

gost.e-ecolog.ru

Предисловие

Цели и принципы стандартизации в Российской Федерации установлены Федеральным законом от 27 декабря 2002 г. № 184-ФЗ «О техническом регулировании», а правила применения национальных стандартов Российской Федерации — ГОСТ Р 1.0—2004 «Стандартизация в Российской Федерации. Основные положения»

Сведения о стандарте

1 ПОДГОТОВЛЕН Обществом с ограниченной ответственностью «ЦИТОпроект» (ООО «ЦИТОпроект») на основе собственного аутентичного перевода на русский язык международного стандарта, указанного в пункте 4

2 ВНЕСЕН Техническим комитетом по стандартизации ТК 453 «Имплантаты в хирургии»

3 УТВЕРЖДЕН И ВВЕДЕН В ДЕЙСТВИЕ Приказом Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии от 11 июля 2012 г. № 169-ст

4 Настоящий стандарт идентичен международному стандарту ИСО 17853:2011 «Износ имплантируемых материалов. Полимерные и металлические частицы износа. Выделение и характеристика» (ISO 17853:2011 «Wear of implant materials — Polymer and metal wear particles — Isolation and characterization»)

5 ВВЕДЕН ВПЕРВЫЕ

Информация об изменениях к настоящему стандарту публикуется в ежегодно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты», а текст изменений и поправок — в ежемесячно издаваемых информационных указателях «Национальные стандарты». В случае пересмотра (замены) или отмены настоящего стандарта соответствующее уведомление будет опубликовано в ежемесячно издаваемом информационном указателе «Национальные стандарты». Соответствующая информация, уведомление и тексты размещаются также в информационной системе общего пользования — на официальном сайте Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии в сети Интернет

© Стандартинформ, 2013

Настоящий стандарт не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован и распространен в качестве официального издания без разрешения Федерального агентства по техническому регулированию и метрологии

Содержание

1 Область применения 1
2 Термины и определения 1
3 Принцип работы, реактивы и аппаратура 1
3.1 Основной принцип 1
3.2 Реактивы 2
3.3 Аппаратура 2
4 Методы отбора проб и анализа полимерных и металлических частиц износа в образцах тканей . . 3
4.1 Хранение и подготовка образцов 3
4.2 Методика выделения полимерных частиц 3
4.3 Методика выделения металлических частиц 4
4.4 Сбор частиц 5
4.5 Размеры частиц и описание их формы 6
4.6 Идентификация частиц 7
5 Методы отбора проб и анализа полимерных и металлических частиц износа из лубрикантов симулятора сустава 8
5.1 Общие сведения 8
5.2 Методика для полимерных материалов — на примере СВМПЭ и полиэфирэфиркетона (ПЭЭК) 8
5.3 Методика для металлических частиц 9
5.4 Методика для керамических частиц 11
6 Отчет об испытании 11
Библиография 13

НАЦИОНАЛЬНЫЙ СТАНДАРТ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Имплантаты для хирургии

ИЗНОС ИМПЛАНТИРУЕМЫХ МАТЕРИАЛОВ ПОЛИМЕРНЫЕ И МЕТАЛЛИЧЕСКИЕ ЧАСТИЦЫ ИЗНОСА

Выделение и характеристика

Implants for surgery. Wear of implant materials. Polymer and metal wear particles. Isolation and characterization

Дата введения — 2013—06—01

1 Область применения

Настоящий стандарт устанавливает методы отбора частиц, образованных при износе эндопротезов суставов человека и в испытаниях на симуляторах суставов. В нем определены аппаратура, реагенты и методы испытаний для выделения и описания как полимерных и металлических частиц износа из образцов тканей, иссеченных вокруг эндопротезов суставов, полученных при проведении ревизионных операциях и при патологоанатомическом исследовании, так и из образцов испытательных жидкостей симуляторов суставов. Некоторые из этих процедур, безусловно, могут быть адаптированы для выделения и характеристики частиц из биологических жидкостей человека (например, синовиальной жидкости).

Методы, приведенные в настоящем стандарте, не предназначены для количественного определения степени износа имплантата, а также не предназначены для определения степени износа какой-либо отдельной поверхности. Настоящий стандарт не распространяется на биологические эффекты частиц износа и не предоставляет методы оценки их биологической безопасности.

2 Термины и определения

В настоящем стандарте применены следующие термины с соответствующими определениями:

2.1 **полимерные частицы износа:** Частицы, образующиеся при износе полимерных компонентов имплантата.

2.2 **металлические частицы износа:** Частицы и дисперсные продукты коррозии, образующиеся при износе металлических компонентов имплантата.

2.3 **керамические частицы износа:** Частицы, образующиеся при износе керамических компонентов имплантата.

3 Принцип работы, реактивы и аппаратура

3.1 Основной принцип

Полимерные и металлические частицы износа выделяют из образцов тканей и из лубрикантов симуляторов суставов путем гидролиза. Извлеченные частицы каждого вида затем очищают путем удаления всех оставшихся органических остатков.

Примечание — Методы, применяемые для выделения полимерных и металлических частиц износа, различаются и описаны в 4.2 и 4.3 соответственно.

Частицы выделяют и анализируют/подсчитывают (где применимо) с помощью сканирующей электронной микроскопии (СЭМ) или трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ).

Издание официальное

3.2 Реактивы

При проведении анализа, если не указано иное, используют только реагенты аналитической степени чистоты (ч. д. а.) и дистиллированную воду либо воду эквивалентной чистоты.

Все реакционные растворы перед использованием необходимо профильтровать через фильтр размерами пор 0,2 мкм или менее во избежание загрязнения образцов посторонними частицами.

3.2.1 Абсолютный этанол.

3.2.2 Ацетон, 100 %-ный или разведенный дистиллированной водой, с объемной долей ацетона 80 %.

3.2.3 Дистиллированная вода.

3.2.4 Фиксатор, например формалин, разведенный дистиллированной водой, с объемной долей формалина 10 %.

3.2.5 Раствор соляной кислоты HCl c = 0,01 моль/л.

3.2.6 Смесь изопропанола и воды, ρ = 0,96 и ρ = 0,90 г/см^3 соответственно.

3.2.7 Раствор папаина, 4,8 ед/1,5 мл буфера 250 мМ фосфата натрия, содержащего 25 мМ этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), pH 7,4.

3.2.8 Натрий-фосфатный буфер концентрацией 250 мМ, содержащий 25 мМ ЭДТА, pH 7,4.

3.2.9 Протеиназа К, 2 г/мл в 50 мМ Трис-буфере, pH 7,6.

Примечание — Для частиц, изолированных из сывороточного лубриканта симулятора сустава, количество должно быть скорректировано в зависимости от процентного содержания сыворотки в лубриканте и начального объема сыворотки, из которого выделялись частицы. См. 5.3.2.

3.2.10 Смола, эпоксидная смола, например EMbed 812.

3.2.11 Додецилсульфат натрия (SDS), 2,5 г/100 мл дистиллированной воды или 3 г/100 мл 80 %-ного ацетона.

3.2.12 Гидроксид натрия NaOH, растворы и гранулы, c = 5 М.

3.2.13 Растворы сахарозы, ρ = 1,35, 1,17, 1,08, 1,04 и 1,02 г/см^3.

3.2.14 Трис-гидрохлорид буфер, Трис-буфер, 50 мМ, pH 7,6.

3.3 Аппаратура

Вся аппаратура перед использованием должна быть очищена и трижды промыта дистиллированной водой, предварительно профильтрованной через фильтр размерами пор 0,2 мкм (см. 3.3.6), для удаления любых посторонних частиц.

3.3.1 Алюминиевый столик для образцов.

3.3.2 Весы точностью минимум 0,1 мг.

3.3.3 Углеродные самоклеящиеся пластины.

3.3.4 Пробирки для центрифугирования разных размеров.

3.3.5 Центрифуга.

3.3.6 Фильтры размерами пор 0,2 мкм для фильтруемых реактивов и дистиллированной воды.

3.3.7 Система фильтрации.

3.3.8 Медные сетки, покрытые формваром, размерами ячеек 200 меш. для ТЭМ.

3.3.9 Инфракрасный спектроскоп с Фурье-преобразованием (ИКФП).

3.3.10 Нагревательная плита.

3.3.11 Безворсовая ткань.

3.3.12 Пипетки, микропипетки и наконечники.

3.3.13 Поляризационный световой микроскоп.

3.3.14 Поликарбонатные мембранные фильтры размерами пор 10, 1, 0,1, 0,05 и 0,015 мкм для сбора частиц.

3.3.15 Сканирующий электронный микроскоп СЭМ с модулем энергодисперсионного рентгеноспектрального анализа (ЭДРСА).

3.3.16 Стерильные чашки Петри с крышками.

3.3.17 Шприц с широким просветом иглы.

3.3.18 Стеклянный гомогенизатор Поттера с тефлоновым пестиком.

3.3.19 Трансмиссионный электронный микроскоп ТЭМ с модулем энергодисперсионного рентгеноспектрального анализа (ЭДРСА).

3.3.20 Ультразвуковой клеточный дезинтегратор, оснащенный титановым микрозондом.

3.3.21 Ультразвуковая ванна.

3.3.22 Водяная баня с перемешиванием и температурным контролем.

4 Методы отбора проб и анализа полимерных и металлических частиц износа в образцах тканей

4.1 Хранение и подготовка образцов

Ткани хранят в морозильной камере при температуре минус 70 °С (или ниже) либо при комнатной температуре в таком фиксаторе, как формалин (см. 3.2.4), разбавленном дистиллированной водой (см. 3.2.3), с объемной долей формалина 10 %. Размораживают ткани, если нужно, тщательно промывают их дистиллированной водой, прежде чем продолжить выполнение метода извлечения. Удаляют избыток воды из промытых тканей, промокнув их безворсовой тканью (см. 3.3.11).

Нефиксированные ткани должны быть обработаны при универсальных условиях.

Материал хирургических инструментов, использованных для извлечения образца, должен быть отмечен для учета возможного загрязнения.

Примечание — В зависимости от места забора образца может наблюдаться вариабельность проб.

4.2 Методика выделения полимерных частиц

4.2.1 Гидролиз тканей

Имеется большое число опубликованных методов для выделения полиэтиленовых частиц из перипротезных тканей. Описанный здесь метод основан на работах [2], [3], [4].

Разрезают ткани на мелкие кусочки с помощью скальпеля и лезвия для ускорения гидролиза. Экстрагируют липиды из измельченной ткани, поместив образец в смесь хлороформа и метанола в объемных долях 2:1 на 24 ч или до оседания ткани на дно контейнера. Извлекают и промывают ткань раствором НФБ (см. 3.2.8).

Добавляют к тканям 5 М NaOH (см. 3.2.12) (из расчета 10 мл 5 М NaOH на 1 г ткани) и оставляют для гидролиза минимум на 24 ч на водяной бане с перемешиванием (см. 3.3.22) при температуре 65 °С. О завершении гидролиза можно судить по исчезновению видимых твердых фрагментов ткани в суспензии.

4.2.2 Очистка выделенных полимерных частиц

4.2.2.1 Общая информация

После гидролиза тканей полимерные частицы могут быть очищены несколькими способами. Используют один из методов, описанных в 4.2.2.2 или 4.2.2.3.

4.2.2.2 Очистка полимерных частиц высокоскоростным центрифугированием

Данный метод позволяет выделить частицы всех размеров в диапазоне длин от нанометров до нескольких миллиметров и определить общий объем выделенных частиц износа. Охлаждают гидролизованные ткани до температуры 4 °С. Добавляют равный объем ледяного абсолютного этанола (см. 3.2.1). На данном этапе возможна преципитация солей. Если это произошло, добавляют дистиллированную воду до полного растворения солей. Инкубируют раствор при температуре 4 °С с перемешиванием, оставляют на ночь. Затем центрифугируют раствор при 20000 g в течение 2 ч при температуре 4 °С. Сливают надосадочную жидкость (супернатант) в чистую пробирку (см. 3.3.4) и перед фильтрацией разбавляют 400 мл дистиллированной воды.

4.2.2.3 Очистка полимерных частиц ультрацентрифугированием

Помещают 2 мл каждого из растворов сахарозы (см. 3.2.13) (ρ = 1,35, 1,17, 1,08, 1,04 и 1,02 г/см^3) в пробирки для центрифугирования (см. 3.3.4) так, чтобы пробирки были заполнены приблизительно на 3/4 объема. Затем вливают отмеренные аликвоты суспензии гидролизованных тканей на поверхность раствора сахарозы в каждую пробирку. Проводят ультрацентрифугирование при 100000 *g* в течение 3 ч при температуре 5 °С. Аккуратно отбирают верхний слой в стерильную пробирку и разбавляют дистиллированной водой при температуре 65 °С для облегчения разведения остаточной сахарозы. Обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин для разрушения агломератов частиц, а затем нагревают в течение 1 ч при температуре 80 °С для растворения сахарозы.

Добавляют отмеренные объемы суспензии к двухслойной смеси изопропанола и воды (см. 3.2.6), помещенной в пробирки для ультрацентрифугирования, плотностью 0,90 и 0,96 г/см^3 соответственно. Проводят ультрацентрифугирование при 100000 *g* в течение 1 ч при температуре 20 °С. После извлечения пробирок из ротора ультрацентрифуги слой белых частиц должен быть виден на границе раздела двух слоев. Используя стеклянную пипетку с тонким наконечником (см. 3.3.12), через верхний слой изопропанола удаляют слой, содержащий частицы полиэтилена, и помещают его в стерильную пробирку. Обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин для разрушения всех агломератов.

Можно использовать другие время и скорость ультрацентрифугирования, если при этом достигается такая же степень разделения и результаты, верифицирующие соответствие разделения, были документированы.

Примечание 1 — Первый шаг ультрацентрифугирования служит для отделения более легких полиэтиленовых частиц износа от более тяжелых фракций. Второй шаг ультрацентрифугирования необходим для очистки выделенных полиэтиленовых частиц в меньшем градиенте плотности.

Примечание 2 — Этот метод может не работать в присутствии наиболее крупных частиц полиэтилена, и, следовательно, общий объем износа не может быть выделен.

4.3 Методика выделения металлических частиц

Из-за растворения металлов в сильных кислотах и щелочах необходимо использовать методы ферментативного гидролиза.

Приведенный ниже метод был описан в [5] и сходен с процедурой, разработанной ранее той же группой авторов, для выделения частиц из лубриканта симулятора сустава [6] (см. раздел 5), с незначительными различиями на начальных этапах, а также различиями в концентрации фермента с учетом использования образцов ткани вместо сывороточного лубриканта.

Примечание 1 — Возможность использования одинаковой процедуры для изоляции и характеристики частиц из тканей и лубриканта симулятора сустава позволяет проводить прямое и точное сравнение изолированных частиц [7], что важно, например, для валидации симулятора сустава. Это значительное преимущество данной процедуры.

a) Разрезают ткань на мелкие кусочки с помощью скальпеля и лезвия для ускорения ферментативного гидролиза. Ресуспендируют несколько маленьких кусочков ткани (около $2 \times 2 \times 2$ мм) в пробирках объемом 2 мл.

Примечание 2 — Масса образца ткани зависит от общего износа имплантата, наблюдаемого у пациента, а также участка ткани, используемого для выделения частиц (например, гранулема, капсула).

Рекомендованная сырая масса составляет от 100 до 150 мг, но при необходимости может быть откорректирована.

b) Промывают четыре раза в течение 2 мин в натрий-фосфатном буфере (см. 3.2.8), pH 7,4.

c) Ресуспендируют кусочки ткани в 1 мл SDS (см. 3.2.11) (2,5 г/100 мл дистиллированной воды) и кипятят в течение 10 мин. Во время кипения гомогенизируют кусочки ткани в растворе с помощью стеклянного гомогенизатора Поттера с тефлоновым пестиком (см. 3.3.18) каждые 2 мин.

d) Охлаждают при комнатной температуре в течение 10 мин.

e) Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 10 мин.

f) Промывают один раз 1 мл ацетона (см. 3.2.2), разбавленного дистиллированной водой, с объемной долей ацетона 80 %. Центрифугируют при 16000 *g* в течение 10 мин.

g) Промывают три раза 1 мл 250 мМ натрий-фосфатного буфера, содержащего 25 мМ ЭДТА, pH 7,4. Для каждой промывки центрифугируют при 16000 *g* в течение 10 мин.

h) Обрабатывают ультразвуком в 1 мл 250 мМ натрий-фосфатном буфере, содержащем 25 мМ ЭДТА, pH 7,4, в течение 20—25 с, используя ультразвуковой дезинтегратор клеток, оснащенный микрозондом, либо в обрабатываемой ультразвуком водяной бане в течение 30 мин.

Использование ультразвукового дезинтегратора клеток является более эффективным, однако для предотвращения возможной контаминации титаном из наконечника зонда следует использовать дезинтегратор с чистым и неповрежденным/некорродированным наконечником.

i) Добавляют 0,5 мл 250 мМ натрий-фосфатного буфера, содержащего 25 мМ ЭДТА, pH 7,4, и раствор папаина (см. 3.2.7) (4,8 единиц фермента на 1,5 мл натрий-фосфатного буфера). Инкубируют на водяной бане с перемешиванием (см. 3.3.22) в течение 24 ч при температуре 65 °С.

j) Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 10 мин.

k) Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

l) Ресуспендируют осадок в 1 мл SDS (2,5 г/100 мл дистиллированной воды).

m) Кипятят в течение 10 мин.

n) Охлаждают при комнатной температуре в течение 10 мин.

o) Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 10 мин.

p) Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

q) Промывают осадок в 1 мл 50 мМ Трис-буфере (см. 3.2.14) (pH 7,6). Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 10 мин. Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

r) Повторяют действия по перечислению q) еще раз.

s) Ресуспендируют осадок в 1 мл 50 мМ Трис-буфере и обрабатывают ультразвуком в течение 30 с, используя ультразвуковой дезинтегратор клеток, оснащенный титановым микрозондом, либо в обрабатываемой ультразвуком водяной бане в течение 30 мин.

Следует обратить внимание, что использование ультразвукового дезинтегратора клеток является более эффективным, однако для предотвращения возможной контаминации титаном из наконечника зонда следует использовать дезинтегратор с чистым и неповрежденным/некорродированным наконечником.

t) Добавляют протеиназу К (см. 3.2.9) (2 г/мл Трис-буфера) и инкубируют в течение 24 ч при температуре 55 °С на водяной бане с перемешиванием.

u) Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 15 мин.

v) Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

w) Добавляют 1 мл SDS (2,5 г/100 мл дистиллированной воды).

x) Кипятят в течение 10 мин.

y) Охлаждают при комнатной температуре в течение 10 мин.

z) Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 15 мин.

aa) Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

bb) Промывают осадок в 1 мл 50 мМ Трис-буфере (pH 7,6). Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 15 мин. Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

cc) Промывают 0,5 мл 80 %-ного ацетона, содержащего 3 % SDS (см. 3.2.11) (3 г/100 мл раствора в 80 %-ном ацетоне). Центрифугируют при 16000 *g* в течение 15 мин, аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

dd) Промывают 1 мл дистиллированной воды. Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 15 мин, аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

ee) Добавляют абсолютный этанол (см. 3.2.1) и хранят при температуре 4 °С в процессе накопления частиц (см. 4.4.2).

Примечание 3 — В качестве варианта перечисления g)—i) можно выполнить, используя 50 мМ Трис-буфера. Необходимо проверить эффективность используемого фермента папаина.

4.4 Сбор частиц

4.4.1 Полиэтиленовые частицы

Собирают частицы, отфильтровав сначала на фильтре размерами пор 0,1 мкм, а затем — на фильтре размерами пор 0,015 мкм либо аналогичном. Для частиц, выделенных высокоскоростным центрифугированием, либо для тех случаев, когда необходим полный объем износа, фильтруют весь объем образца, полученного по 4.2.2.2, используя вакуумную систему фильтрации. Для частиц, выделенных ультрацентрифугированием (см. 4.2.2.3), используют аликвоты суспензий частиц объемом от 10 до 300 мкл либо большие объемы разбавленной суспензии частиц.

Примечание — Соответствующее разведение достигается, когда суспензия оказывается почти прозрачной, обычно при разбавлении от 1:10 до 1:100. Целью данной процедуры является получение такой концентрации частиц на фильтре, которая не мешает визуализации отдельных частиц с помощью СЭМ, при том, что для анализа доступно достаточное число частиц (минимум 100 частиц).

При разбавлении следует указать точное разбавление каждого образца. Для фильтрования отбирают известный объем суспензии частиц в шприц (см. 3.3.17) и подсоединяют конец шприца к системе фильтрации (см. 3.3.7). Аккуратно надавливают на поршень шприца, чтобы протолкнуть воду через фильтр и вытолкнуть из системы фильтрации со скоростью приблизительно одна капля (0,045 мл) в секунду, при этом частицы задерживаются на поверхности фильтра. Меняют фильтр в случае засорения. Используют следующую процедуру для каждого фильтра. Промывают фильтр и шприц дистиллированной водой. Наконец, перед удалением фильтра из системы фильтрации продувают фильтр воздухом в направлении фильтрации, используя пинцет, а затем оставляют высохнуть в стерильной закрытой чашке Петри.

Из-за малого размера частиц следует использовать фильтры размерами пор менее 0,1 мкм (если доступно). В таком случае может понадобиться последовательная фильтрация, чтобы избежать засорения пор.

4.4.2 Металлические частицы

Центрифугируют частицы в этаноле (как описано в методике выделения по 4.3) при 16000 *g* в течение 20 мин. Удаляют супернатант и добавляют 0,5 мл 100 %-ного ацетона эпоксидной смолы (см. 3.2.10) (1:1). Помещают и вращают пробирки в держателе для пробирок, оставляют на ночь при комнатной температуре (продолжительность настоящей процедуры может быть сокращена для очень маленького осадка). Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 20 мин. Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок. Оставляют пробирку под вакуумом на 1 ч для удаления остатков ацетона. Добавляют 1 мл чистой эпоксидной смолы (см. 3.2.10) и оставляют пробирки под вакуумом на 3 ч. Помещают пробирки в термошкаф при температуре 60 °С на 48 ч для полимеризации смолы. Удаляют пластиковые пробирки для извлечения твердого полимера с осажденными частицами на дне. Настоящая методика делает возможной инфильтрацию полимером осадка и разделение частиц.

С помощью алмазного ножа разрезают осадок частиц на секции, распределяют полученные секции (толщиной примерно 100—120 нм) на медной сетке, покрытой формваром, размерами ячеек 200 меш. для ТЭМ анализа [5], [6]. Выполняют секционирование осадка так, чтобы получить равномерное распределение частиц в нем (при возможности нарезают весь материал осадка).

Примечание — Металлические частицы также могут быть собраны вакуумной фильтрацией на фильтрующей мембране размерами пор 0,015 мкм для анализа СЭМ с высоким разрешением [8]. Однако при использовании данного метода пользователю необходимо проверить наличие потенциально возможных агломератов частиц и окисления на фильтре, а также принять во внимание возможную потерю частиц.

4.5 Размеры частиц и описание их формы

4.5.1 Полиэтиленовые частицы

Для СЭМ визуализации частиц присоединяют фильтр с частицами на нем к предметному держателю СЭМ с помощью углеродной самоклеящейся пластины (см. 3.3.3). Покрывают фильтр золотом либо другим проводящим материалом, например, платиной/палладием, чтобы сделать частицы электропроводящими. Толщина покрытия должна составлять от 3 до 5 нм. Визуализируют полимерные частицы в ускоряющем напряжении, не превышающем 10 кэВ.

Для описания частиц размерами более 0,1 мкм выбирают произвольные неперекрывающиеся поля на фильтре с частицами при увеличении минимум 5000$^{\times}$ до визуализации 100 частиц. Для частиц размерами более 10 мкм используют меньшее увеличение, например, 500$^{\times}$.

Определяют размеры, форму и площадь частиц, используя заранее определенные описания, например, длину, ширину, эквивалентный диаметр круга (диаметр круга с такой же площадью, как у частицы), площадь, периметр, соотношение сторон (соотношение длина:ширина) и округлость (периметр $1/4\pi \times$ площадь), как описано в [9]. Увеличение, при котором был проведен анализ размера и формы, должно быть указано в протоколе испытаний.

Для описания частиц размерами менее 0,1 мкм используют СЭМ высокого разрешения. Используют увеличения до 100000$^{\times}$ при ускоряющем напряжении 3 кэВ.

Примечание 1 — Разделение полимерных частиц на удлиненную и округлую формы также может быть полезным.

Примечание 2 — Для определения формы и размеров частиц можно применить компьютерную или ручную обработку изображения с использованием программного обеспечения.

Примечание 3 — Можно также использовать анализаторы частиц, если предел их разрешения составляет 0,1 мкм или менее, однако при этом существует риск превышения реальных размеров из-за агломерации частиц.

4.5.2 Металлические частицы

4.5.2.1 Общая информация

Как описано в 4.4.2, частицы обычно анализируют с помощью ТЭМ, однако анализ можно провести и с использованием СЭМ.

4.5.2.2 ТЭМ-анализ

Получают изображение металлических частиц, используя ТЭМ при ускоряющем напряжении около 80 кВ и установленном увеличении не менее 21000$^{\times}$ (увеличение необходимо указать в отчете).

Следует охарактеризовать металлические частицы по размерам и форме ручным анализом репрезентативной ТЭМ микрофотографии (минимум 150 частиц в случае низкого износа; 300 или более, если допустимо). Характеризируют все частицы с каждой микрофотографии, чтобы обеспечить лучшее и объективное представление частиц разных размеров. Определяют максимальный размер (или длину) каждой изображенной частицы наряду с определением максимального ортогонального размера (или ширины). Значения соотношения длины к ширине r предоставляют информацию о форме частиц. Частицы могут быть произвольно классифицированы как округлые, если $1 \le r < 1,5$; овальные, если $1,5 \le r < 2,5$; игловидные, если $r \ge 2,5$ [5], [6]. Для автоматизации обработки касающихся частиц данных может быть создано пользовательское программное обеспечение.

Примечание — Ускоряющее напряжение ТЭМ может быть скорректировано по мере необходимости для оптимизации изображения частиц.

Возможно использование программного обеспечения для компьютерного анализа изображения и характеристики частиц, однако сначала данное программное обеспечение необходимо проверить в отношении точности (например, сравнив результаты компьютерного и ручного анализов хотя бы для одного образца). Ручной анализ изображения остается более предпочтительным и настоятельно рекомендуется.

4.5.2.3 СЭМ-анализ

Для СЭМ визуализации частиц присоединяют фильтр с частицами на нем к держателю СЭМ с помощью углеродной самоклеящейся пластины. Покрывают фильтр золотом либо другим проводящим материалом, например, платиной/палладием, чтобы сделать частицы электропроводящими. Толщина покрытия должна составлять от 3 до 5 нм. Используют СЭМ высокого разрешения при увеличении от 60000× до 150000× и при ускоряющем напряжении 3 кэВ для получения изображения частиц в произвольно выбранной области фильтра.

Как и в случае ТЭМ-анализа, следует охарактеризовать металлические частицы по форме и размерам ручным анализом репрезентативной микрофотографии СЭМ (минимум 150 частиц). Определяют максимальный размер (или длину) каждой изображенной частицы наряду с определением максимального ортогонального размера (или ширины). Значения соотношения длины к ширине r предоставляют информацию о форме частиц. Частицы могут быть произвольно классифицированы как округлые, если $1 \le r < 1,5$; овальные, если $1,5 \le r < 2,5$; игловидные, если $r \ge 2,5$ [5], [6]. Также может быть измерена площадь частиц. Для автоматизации обработки данных, характеризующих частицы, может быть создано пользовательское программное обеспечение.

Как и в случае ТЭМ-анализа, возможно использование программного обеспечения для компьютерного анализа изображения и характеристики частиц, однако сначала данное программное обеспечение необходимо проверить в отношении точности (например, сравнив результаты компьютерного и ручного анализов хотя бы для одного образца). Ручной анализ изображения остается более предпочтительным и настоятельно рекомендуется.

4.6 Идентификация частиц

4.6.1 Полиэтиленовые частицы

Подтверждают идентификацию полученных частиц как полиэтиленовых с помощью инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием (ИКФП). Частицы для ИКФП спектроскопии должны быть подготовлены путем сушки и прессования в диски бромида калия (KBr) или с помощью дополнительного приспособления микроскопа.

Частицы считаются состоящими из сверхвысокомолекулярного полиэтилена (СВМПЭ), если основные пики в ИК спектрах сопоставимы с таковыми в эталонных спектрах СВМПЭ, например, в спектрах, полученных из порошка СВМПЭ медицинской степени чистоты.

Морфология частиц может быть использована в качестве дополнительной основы для определения СВМПЭ частиц в соответствии с опубликованными изображениями СВМПЭ частиц (см., например, [9]).

Примечание — Возможно, понадобится объединить частицы из различных образцов для получения достаточного объема материала для ИКФП спектроскопического анализа.

4.6.2 Металлические частицы

Состав металлических частиц следует определять с помощью энергодисперсионного рентгеноспектрального анализа (ЭДРСА). Для подтверждения идентификации также можно использовать дифрактограммы.

5 Методы отбора проб и анализа полимерных и металлических частиц износа из лубрикантов симулятора сустава

5.1 Общие сведения

Объем бычьей сыворотки, используемой в качестве тестовой жидкости в симуляторах суставов, может варьироваться в разных симуляторах и между испытаниями. Так как нецелесообразно использовать весь объем сыворотки для анализа частиц, необходимо в качестве аликвот отобрать репрезентативные образцы сыворотки из хорошо перемешанной тестовой жидкости и хранить их в замороженном виде, пока они не потребуются. Обеспечивают репрезентативность образца, соскоблив осадок с поверхностей и перемешав тестовую жидкость до взятия проб.

5.2 Методика для полимерных материалов — на примере СВМПЭ и полиэфирэфиркетона (ПЭЭК)

5.2.1 Общие сведения

Из-за отсутствия тканей процедура выделения частиц из образцов лубриканта, используемого в симуляторе, отличается от процедуры, описанной в 4.2. Испытательными лабораториями применяются два наиболее распространенных опубликованных метода. Выбор подходящего метода зависит от материала выделяемых частиц.

5.2.2 Гидролиз сыворотки соляной кислотой

Нижеследующий метод был опубликован в [10] и изначально применялся только для СВМПЭ. Было показано, что выделение частиц из других материалов, таких как ПЭЭК и керамика, успешно проводится при гидролизе кислотой, однако предварительно необходимо тщательно протестировать все материалы, отличные от СВМПЭ, на предмет устойчивости к соляной кислоте.

a) Добавляют 10 мл образца сыворотки к 40 мл соляной кислоты (объемной долей 37 %).

b) Перемешивают с использованием магнитной мешалки в течение 1 ч при температуре 50 °С.

Примечание — Жидкость станет слегка фиолетовой.

c) Добавляют 100 мл метанола на 0,5 мл гидролизуемого раствора.

5.2.3 Гидролиз сыворотки гидроксидом натрия

Нижеследующий метод основан на опубликованных работах [2] и [4].

a) Образцы лубриканта необходимо гидролизовать с использованием 5 М NaOH при температуре 60 °С на водяной бане с перемешиванием в течение минимум 24 ч или до полного гидролиза. Охлаждают образцы до температуры 4 °С в течение минимум 2 ч. Следует убедиться, что образцы полностью охлаждены.

b) Добавляют равный объем смеси хлороформ:метанол (2:1) к каждому образцу и инкубируют при комнатной температуре в течение 24 ч.

c) Центрифугируют гидролизованные образцы при 500 *g* в течение 10 мин при комнатной температуре, сливают супернатант в чистую пробирку.

d) Повторяют действия по перечислениям b) и c) три-четыре раза до тех пор, пока надосадочная жидкость не станет прозрачной.

e) Сливают образцы и добавляют равные объемы абсолютного этанола для осаждения белков.

f) Добавляют дистиллированную воду до тех пор, пока раствор не станет прозрачным, оставляют образцы на ночь при температуре 4 °С при перемешивании.

g) Центрифугируют образцы при 20000 *g* в течение 2 ч при температуре 4 °С.

h) Сливают надосадочную жидкость в чистую пробирку и перед фильтрацией добавляют равный объем дистиллированной воды.

5.2.4 Сбор частиц

Частицы собирают с помощью фильтрации через поликарбонатную фильтровальную мембрану размерами пор 0,05 мкм. В случае материалов, продуцирующих наноразмерные частицы, может понадобиться фильтр с меньшими размерами пор, например, 0,015 мкм.

Напротив, в случае значительно засоренных частицами лубрикантов для симуляторов суставов, для обеспечения визуализации отдельных частиц необходимо использовать последовательность фильтров с уменьшающимися размерами пор, например, 10, 1 и 0,015 мкм.

5.2.5 Размеры частиц и анализ их формы

Изображения частиц, полученные с использованием СЭМ, должны быть записаны. Увеличение изображений зависит от размеров частиц и, как правило, варьирует от 500$^{\times}$ до 150000$^{\times}$. Минимум 100 частиц должны быть проанализированы в соответствии с методом, описанным в 4.5.1.

5.2.6 Идентификация частиц

Идентификация частиц должна быть проведена с помощью инфракрасной спектроскопии с Фурье-преобразованием (ИКФП), как описано в 4.6.1.

5.3 Методика для металлических частиц

5.3.1 Общие сведения

Из-за растворения металлов в сильных кислотах и щелочах необходимо использовать методы ферментативного гидролиза. Метод, описанный в 5.3.2, ранее был опубликован в [6]. Авторами были сделаны некоторые незначительные изменения по сравнению с ранее разработанной процедурой [11] с целью использования больших объемов сыворотки, содержащей большее количество органических загрязнителей.

Методика идентична описанной для выделения и анализа частиц из тканей [5] (см. раздел 4) с незначительными различиями на начальных этапах, а также различиями в концентрации фермента с учетом использования сывороточного лубриканта вместо образцов ткани.

Примечание 1 — Возможность использования одинаковой процедуры для выделения и анализа частиц из тканей и лубриканта для симулятора сустава позволяет проводить прямое и точное сравнение выделенных частиц [7], что важно, например, для валидации симулятора сустава. Это значительное преимущество данной процедуры.

Примечание 2 — Методика, описанная в 5.3.2, изначально была разработана для изоляции частиц из 95 %-ного сывороточного лубриканта. Поэтому ее можно использовать для выделения частиц из жидкостей с очень высоким содержанием белка.

Примечание 3 — Данная методика, безусловно, может быть адаптирована для выделения и характеристики частиц из биологических жидкостей человека (например, синовиальной жидкости) благодаря нескольким этапам гидролиза для органических компонентов различных типов.

5.3.2 Гидролиз сыворотки

a) Центрифугируют образец сыворотки объемом 15 мл при 16000 *g* в течение 10 мин в стеклянных пробирках объемом 25 мл (стеклянные пробирки являются более предпочтительными для предотвращения прилипания частиц к стенкам пробирки).

Примечание 1 — Необходимый объем сыворотки зависит от суммарного объема износа имплантата, подвергнутого циклическому испытанию в симуляторе. Образец сыворотки объемом 15 мл из объема сыворотки 100 мл, содержащей частицы износа общим объемом приблизительно от 0,4 до 0,8 мм^3, дает видимый осадок частиц. Если объем износа ниже, то можно использовать несколько образцов объемом 15 мл, объединенных вместе после этапа расщепления папаином [перечисление o)].

b) Аккуратно удаляют сыворотку, оставив около 1,5 мл. Ресуспендируют осадок в 1,5 мл сыворотки и переносят раствор в 2-миллиметровую пробирку для микроцентрифугирования.

c) Центрифугируют раствор при 16000 *g* в течение 10 мин. Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирки.

d) Ресуспендируют осадок в SDS (2,5 г/100 мл дистиллированной воды).

e) Кипятят пробирки в течение 10 мин.

f) Охлаждают при комнатной температуре в течение 10 мин.

g) Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 10 мин.

h) Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

i) Промывают осадок в 1 мл ацетона, разбавленного дистиллированной водой, с объемной долей ацетона 80 %. Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 10 мин. Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

j) Промывают осадок в 1 мл 250 мМ натрий-фосфатном буфере, содержащем 25 мМ ЭДТА, pH 7,4. Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 10 мин. Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

k) Повторяют действия по перечислению j) еще два раза.

l) Ресуспендируют осадок в 1 мл 250 мМ натрий-фосфатном буфере, содержащем 25 мМ ЭДТА, pH 7,4, и обрабатывают ультразвуком в течение 10—15 с, используя ультразвуковой дезинтегратор клеток, оснащенный титановым микрозондом, либо в обрабатываемой ультразвуком водяной бане в течение 30 мин.

Использование ультразвукового дезинтегратора клеток является более эффективным, однако для предотвращения возможной контаминации титаном из наконечника зонда следует использовать дезинтегратор с чистым и неповрежденным/некорродированным наконечником.

m) Добавляют 0,5 мл 250 мМ натрий-фосфатного буфера, содержащего 25 мМ ЭДТА, pH 7,4, и папаин (4,8 единиц фермента на 1,5 мл натрий-фосфатного буфера). Инкубируют на водяной бане с перемешиванием в течение 24 ч при температуре 65 °С.

n) Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 10 мин.

o) Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

Если изначально использовались несколько образцов по 15 мл каждый (в случае незначительного износа), соответствующие осадки необходимо ресуспендировать в дистиллированной воде и объединить в одну пробирку в общем объеме дистиллированной воды 1 мл. Полученную в результате пробирку центрифугируют при 16000 *g* в течение 10 мин, а затем удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

p) Ресуспендируют осадок в 1 мл SDS (2,5 г/100 мл дистиллированной воды).

q) Кипятят в течение 10 мин.

r) Охлаждают при комнатной температуре в течение 10 мин.

s) Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 10 мин.

t) Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

u) Промывают осадок в 1 мл 50 мМ Трис-буфере, pH 7,6. Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 10 мин. Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

v) Повторяют действия по перечислению u).

w) Ресуспендируют осадок в 1 мл 50 мМ Трис-буфере и обрабатывают ультразвуком в течение 5 с, используя ультразвуковой дезинтегратор клеток, оснащенный титановым микрозондом, либо в обрабатываемой ультразвуком водяной бане в течение 30 мин.

Следует обратить внимание, что использование ультразвукового дезинтегратора клеток является более эффективным, однако для предотвращения возможной контаминации титаном из наконечника зонда следует использовать дезинтегратор с чистым и неповрежденным/некорродированным наконечником.

x) Добавляют протеиназу К (0,9 г/мл в Трис-буфере для исходного объема сыворотки 15 мл, концентрация должна быть подобрана в зависимости от начального объема сыворотки) и инкубируют в течение 24 ч при температуре 55 °С на водяной бане с перемешиванием.

y) Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 15 мин.

z) Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

aa) Добавляют 1 мл SDS (2,5 г/100 мл дистиллированной воды).

bb) Кипятят в течение 10 мин.

cc) Охлаждают при комнатной температуре в течение 10 мин.

dd) Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 15 мин.

ee) Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

ff) Промывают осадок в 1 мл 50 мМ Трис-буфере (pH 7,6). Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 15 мин. Аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

gg) Промывают осадок в 0,5 мл 80 %-ного ацетона, содержащего 3 % SDS (3 г/100 мл раствора в 80 %-ном ацетоне). Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 15 мин и аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

hh) Промывают осадок в 1 мл дистиллированной воды. Центрифугируют пробирки при 16000 *g* в течение 15 мин и аккуратно удаляют жидкость с помощью микропипетки, не затрагивая осадок на дне пробирок.

ii) Добавляют абсолютный этанол и хранят при температуре 4 °С в процессе накопления частиц (см. 5.3.3).

Данный метод эффективен для выделения частиц из 95 %-ной сыворотки. В случае более низкого содержания сыворотки некоторые этапы возможно опустить. Однако при сравнении частиц из лубриканта для симулятора сустава и частиц из тканей для точности сравнения необходимо применять одинаковые методы.

Примечание 2 — Перечисления j)—m) можно выполнить с использованием 50 мМ Трис-буфера, особенно при изоляции частиц из сыворотки с ее более низким процентным содержанием.

5.3.3 Сбор частиц

Центрифугируют частицы в этаноле при 16000 *g* в течение 20 мин и следуют процедурам, описанным в 4.4.2, для фиксации частиц в эпоксидной смоле и выполнения секционных срезов полученного осадка.

Примечание — Кроме того, частицы могут быть собраны путем фильтрации, как описано в 4.4.2.

5.3.4 Размеры частиц и анализ их формы

5.3.4.1 Общие сведения

Как описано в 4.4.2, частицы обычно анализируют с помощью ТЭМ, однако анализ можно провести и с использованием СЭМ.

5.3.4.2 ТЭМ-анализ

Получают изображение металлических частиц, используя ТЭМ при ускоряющем напряжении около 80 кВ и установленном увеличении не менее 21000$^{\times}$ (увеличение необходимо указать в отчете), как указано в 4.5.2.2.

Металлические частицы можно охарактеризовать по размерам и форме ручным анализом репрезентативной ТЭМ микрофотографии (минимум 150 частиц в случае низкого износа; 300 или более, если допустимо), как указано в 4.5.2.2.

5.3.4.3 СЭМ-анализ

Для визуализации частиц посредством СЭМ присоединяют фильтр с частицами на нем к алюминиевому столику для образцов СЭМ (см. 3.3.1) с помощью углеродной самоклеящейся пластины. Покрывают фильтр и изучают с помощью СЭМ высокого разрешения, как указано в 4.5.2.3.

Как и для исследования ТЭМ, следует охарактеризовать частицы путем анализа изображения, как указано в 4.5.2.3.

5.3.5 Идентификация частиц

Состав металлических частиц следует определять с помощью энергодисперсионного рентгеноспектрального анализа (ЭДРСА), как указано в 4.6.2. Для подтверждения идентификации также можно использовать дифрактограммы.

5.4 Методика для керамических частиц

В настоящем стандарте основное внимание уделено методам выделения и анализа полимерных и металлических частиц износа как из тканей, так и из тестовых жидкостей симуляторов суставов. Однако ряд данных методов может быть также использован для выделения и анализа керамических частиц с учетом нижеследующих рекомендаций.

Из-за плотности керамических материалов, применяемых в ортопедии, керамические частицы износа нельзя выделить описанным ранее методом с применением щелочи (см. 5.2.3) или методом центрифугирования в градиенте плотности (как указано в 4.2.2.3). Поэтому рекомендуется выделять керамические частицы либо методом гидролитического расщепления соляной кислотой, описанным выше (см. 5.2.2), либо согласно протоколу ферментативного гидролиза, описанному в 5.3.2.

Однако, если используется гидролиз соляной кислотой, необходимо тщательно проверить устойчивость материала к кислоте.

6 Отчет об испытании

Отчет об испытании должен включать, как минимум, следующую информацию:

a) идентификационную информацию тестируемых образцов (анонимные сведения о пациенте в случае исследования образцов тканей, расположение образцов тканей, идентификацию образцов, полученных при посмертном исследовании, детали испытания в случае тестовых жидкостей симуляторов сустава);

b) тип имплантата и детали предыдущих операций, если таковые доступны;

c) внешний вид извлеченного протеза (для информации об источнике образования частиц или причине разрушения имплантата, например, импиджмент шейки протеза относительно края ацетабулярного компонента или расшатывание ножки), если доступно;

d) массу образца ткани или общий объем лубриканта, использованный при испытании;

e) данные о размерах, форме и количестве частиц, с указанием распределения;

f) состав металлических частиц;

g) количество проанализированных частиц;

h) увеличение, использованное при подсчете и анализе размеров и формы частиц методом СЭМ или ТЭМ;

i) ускоряющее напряжение ТЭМ, использованное для визуализации частиц;

j) для образцов тканей — материал хирургических инструментов, использованных для извлечения образца;

k) если присутствует загрязнение, список возможных источников загрязняющих частиц металла/полимеров.

Библиография

[1] Billi, F., Benya, P., Ebramzadeh, E. and McKellop, H.A. An accurate and extremely sensitive method to isolate and display nanoparticulate metallic wear debris for morphometric analysis. Transactions 54th Annual Meeting Orthopaedic Research Society, 2008, 1929

[2] Campbell, P.A., Ma, S., Yeom, B., McKellop, H.A., Schmalzried, T.P. and Amstutz, H.C. Isolation of predominantly submicron-sized UHMWPE wear particles from periprosthetic tissues. Journal of Biomedical Materials Research, 29(1), pp. 127—131, 1995

[3] Tipper, J.L., Ingham, E., Hailey, J.L., Besong, A.A., Wroblewski, B.M., Stone, M. and Fisher, J. Quantitative analysis of polyethylene wear debris, wear rate and head damage in retrieved Charnley hip prostheses, Journal of Material Science: Materials in Medicine, 11, pp. 117—124, 2000

[4] Richards, L., Brown, C., Stone, M.H., Fisher, J., Ingham, E. and Tipper, J.L. Identification of nanometer sized ultra high molecular weight polyethylene wear particles in samples retrieved *in vivo*, Journal of Bone and Joint Surgery, 90B, pp. 1106—1113, 2008

[5] Catelas, I., Campbell, P.A., Bobyn, J.D., Medley, J.B. and Huk, O.L. Wear particles from metal-on-metal total hip replacements: Effects of implant design and implantation time. The Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H, Journal of Engineering in Medicine, Special Issue: Development of monolithic and surface replacement metal-on-metal hip replacements, 220, pp. 195—208, 2006

[6] Catelas, I., Bobyn, J.D., Medley, J.B., Krygier, J., Zukor, D.J. and Huk, O.L. Size, shape and composition of wear particles from metal-metal hip simulator testing: Effects of alloy and number of loading cycles, Journal of Biomedical Materials Research, 67A(1), pp. 312—327, 2003

[7] Catelas, I., Medley, J.B., Campbell, P.A., Huk, O.L. and Bobyn, J.D. Comparison of *in vitro* with *in vivo* characteristics of wear particles from metal-metal hip implants, Journal of Biomedical Materials Research — Applied Biomaterials, 70B(2), pp. 167—178, 2004

[8] Brown, C., Williams, S., Tipper, J.L., Fisher, J. and Ingham, E. Characterisation of wear particles produced by metal-on-metal and ceramic-on-metal hip prostheses under standard and microseparation simulation, Journal of Material Science: Materials in Medicine, 18, pp. 819—827, 2007

[9] ASTM F 1877-05, Standard Practice for Characterization of Particles

[10] Scott, M., Morrison, M., Mishra, S.R. and Jani, S. Particle analysis for the determination of UHMWPE wear, Journal of Biomedical Materials Research B — Applied Biomaterials, 73(2), pp. 325—337, 2005

[11] Catelas, I., Bobyn, J.D., Medley, J.B., Krygier, J.J., Zukor, D.J., Petit, A. and Huk, O.L. Effects of digestion protocols on the isolation and characterization of metal-metal wear particles. I. Analysis of particle size and shape, Journal of Biomedical Materials Research, 55(3), pp. 320—329, 2001

УДК 616—089.843:006.354 ОКС 11.040.40 Р23 ОКП 93 9800

Ключевые слова: медицинское оборудование, хирургические имплантаты, механические свойства

Редактор *О.А. Стояновская*
Технический редактор *В.Н. Прусакова*
Корректор *В.И. Варенцова*
Компьютерная верстка *В.И. Грищенко*

Сдано в набор 19.12.2012. Подписано в печать 05.02.2013. Формат 60x84 $^{1}/_{8}$. Гарнитура Ариал. Усл. печ. л. 2,32 .
Уч.-изд. л. 1,75. Тираж 78 экз. Зак. 115.

ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ», 123995 Москва, Гранатный пер., 4.
www.gostinfo.ru info@gostinfo.ru
Набрано во ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» на ПЭВМ.
Отпечатано в филиале ФГУП «СТАНДАРТИНФОРМ» — тип. «Московский печатник», 105062 Москва, Лялин пер., 6.