



中华人民共和国医药行业标准

YY/T 0127.7—2017
代替 YY/T 0127.7—2001

口腔医疗器械生物学评价 第7部分：牙髓牙本质应用试验

**Biological evaluation of medical devices used in dentistry—
Part 7: Pulp and dentine usage test**

(ISO 7405:2008, Dentistry—Evaluation of biocompatibility of medical
devices used in dentistry, NEQ)

2017-03-28 发布

2018-04-01 实施

国家食品药品监督管理总局 发布

前 言

本部分按照 GB/T 1.1—2009 给出的规则起草。

YY/T 0127 系列标准是口腔医疗器械具体生物试验方法标准,共分为如下几部分:

- YY/T 0127.1 口腔材料生物试验方法 溶血试验
 - YY/T 0127.2 口腔医疗器械生物学评价 第 2 单元:试验方法 急性全身毒性试验:静脉途径
 - YY/T 0127.3 口腔医疗器械生物学评价 第 3 部分:根管内应用试验
 - YY/T 0127.4 口腔医疗器械生物学评价 第 2 单元:口腔材料生物试验方法 骨埋植试验
 - YY/T 0127.5 口腔医疗器械生物学评价 第 5 部分:吸入毒性试验
 - YY/T 0127.6 口腔材料生物学评价 第 2 单元:口腔材料生物试验方法 显性致死试验
 - YY/T 0127.7 口腔医疗器械生物学评价 第 7 部分:牙髓牙本质应用试验
 - YY/T 0127.8 口腔材料生物学评价 第 2 单元:口腔材料生物试验方法 皮下植入试验
 - YY/T 0127.9 口腔材料生物学评价 第 2 单元:口腔材料生物试验方法 细胞毒性试验:琼脂覆盖法及分子滤过法
 - YY/T 0127.10 口腔医疗器械生物学评价 第 2 单元:试验方法 鼠伤寒沙门氏杆菌回复突变试验(Ames 试验)
 - YY/T 0127.11 口腔医疗器械生物学评价 第 11 部分:盖髓试验
 - YY/T 0127.12 牙科学 口腔医疗器械生物学评价 第 2 单元:试验方法 微核试验
 - YY/T 0127.13 口腔医疗器械生物学评价 第 2 单元:试验方法 口腔黏膜刺激试验
 - YY/T 0127.14 口腔医疗器械生物学评价 第 2 单元:试验方法 急性经口全身毒性试验
 - YY/T 0127.15 口腔医疗器械生物学评价 第 2 单元:试验方法 亚急性和亚慢性全身毒性试验:经口途径
 - YY/T 0127.16 口腔医疗器械生物学评价 第 2 单元:试验方法 哺乳动物细胞体外染色体畸变试验
 - YY/T 0127.17 口腔医疗器械生物学评价 第 17 部分:小鼠淋巴瘤细胞(TK)基因突变试验
- 本部分为 YY/T 0127 系列标准的第 7 部分。

本部分代替了 YY/T 0127.7—2001《口腔材料生物学评价 第 2 单元:口腔材料生物试验方法 牙髓牙本质应用试验》。

本部分与 YY/T 0127.7—2001 的主要技术变化如下,这些变化均是按照 ISO 7405:2008 而进行修改:

- 取消了规范性引用文件中的年代,删除了规范性引用文件中“YY 0272—1995 齿科氧化锌丁香酚水门汀”标准。
- 对“阴性对照材料”进行了详细说明。
- 在“阳性对照”中增加了“注”。
- 在第 6 章“实验动物”中增加了“动物福利”的内容。实验动物的选择中增加了雪貂。
- 对于牙齿窝洞顶备洞底剩余牙本质厚度增加了“最好小于 0.5 mm”的要求。
- 增加了 8.2.2“试验准备”内容。
- 将组织切片厚度从 5 μm ~10 μm 改为 5 μm ~7 μm 。
- 将评价指标分为 0~3 级改为 0~4 级(表 1)。

YY/T 0127.7—2017

——增加了“成牙本质细胞存活分析”的内容。

——删除了 YY 0127.7—2001 结果评价中 11.1~11.5 内容。

本部分使用重新起草法参考 ISO 7405:2008《牙科学用于口腔的医疗器械生物相容性评价》编制，与 ISO 7405:2008 的一致性程度为非等效。

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。

本标准由国家食品药品监督管理局提出。

本标准由全国口腔材料和器械设备标准化技术委员会(SAC/TC 99)归口。

本标准起草单位：国家食品药品监督管理局北大医疗器械质量监督检验中心。

本标准主要起草人：林红、韩建民、岳林。

本标准所代替标准的历次版本情况为：

——YY/T 0127.7—2001。

口腔医疗器械生物学评价

第7部分：牙髓牙本质应用试验

1 范围

YY/T 0127 的本部分规定了口腔材料牙髓牙本质应用试验方法。

本部分用于评价口腔材料与牙本质及牙髓的生物相容性,包括该材料的预期临床应用所必需的评价方法步骤。

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 16886.2 医疗器械生物学评价 第2部分:动物福利要求(GB/T 16886.2—2011, ISO 10993-2:2006, IDT)

3 阴性对照材料

可快速固化的氧化锌丁香酚水门汀是合适的阴性对照材料。对于长期研究,最好保护氧化锌丁香酚水门汀以防止其水解,可在氧化锌丁香酚水门汀表面涂一薄层聚羧酸锌水门汀或传统(自凝)玻璃离子水门汀以防止其水解,然后采用酸蚀固位的树脂基复合材料充填。需要注意的是氧化锌丁香酚水门汀直接与树脂基复合材料接触会阻止树脂基复合材料的聚合。传统玻璃离子水门汀也可以考虑用作阴性对照材料。

4 阳性对照

在未暴露的牙髓上所用的充填材料或技术能引起牙髓的中至重度反应者是合适的阳性对照(如硅水门汀)。

注:不涉及牙髓暴露的修复材料或技术,并且可持续造成中至重度牙髓反应,是合适的阳性对照。

5 动物和动物福利

5.1 动物福利

动物福利应按照:

- a) GB/T 16886.2 或;
- b) 实验动物的国家法规要求。

注:根据 GB/T 16886.2 规定饲养,并可自由摄取食物及水。

5.2 实验动物

使用同一种系的非啮齿类哺乳动物,动物的合适年龄是牙列中含有根尖已形成(根尖成熟)的完好

YY/T 0127.7—2017

恒牙。

猴、狗、小型猪和雪貂是合适的动物种系。其他种系动物可用于特殊目的。动物种系的选择宜在最低动物福利花费下,满足科学研究的最低要求。动物的选择应予以论证和记录。

若使用猴、狗或者小型猪,在每一试验周期至少使用 1 只动物。若使用雪貂,因为只有尖牙是合适的,则每一试验周期至少使用 3 只动物。

注:合适的猴、狗和小型猪是指除 M3 外的所有恒牙均已萌出。合适的雪貂是指 4 个恒尖牙已萌出,因只有尖牙才适用。

6 试验周期

7 d±2 d, 28 d±3 d 及 70 d±5 d。

7 试验步骤

7.1 动物准备

选择足够的动物,以保证每个试验周期中至少有 7 颗健康牙齿含试验材料,4 颗牙齿含阴性对照材料。麻醉动物,并按照 7.2 所述进行试验。

7.2 牙齿预备

7.2.1 窝洞制备

去除牙表面所有的牙石和软垢。用 3%(体积分数)过氧化氢清洁、消毒牙齿表面,然后用含碘或洗必泰的消毒剂消毒。在足够的水汽喷雾下,用锋利钻针在牙齿颊侧或唇侧制备所需数量的 V 类洞。所有窝洞洞底剩余牙本质厚度小于 1 mm,最好小于 0.5 mm,但不暴露牙髓。除充填试验材料要求不同的操作外,均应用水清洗窝洞并用脱脂棉擦干窝洞。

注 1:如果动物有明显的牙龈炎症,则应在窝洞制备前几天去除牙石和软垢,甚至需重复清洁直至牙龈炎症得到控制。

注 2:在窝洞预备的过程中,可以采用校准过的阻抗测量仪,如根尖仪,辅助估计剩余牙本质厚度。

7.2.2 试验材料准备

按照产品说明书准备试验材料。如果产品说明书要求使用衬洞材料或窝洞处理剂(如牙本质粘接剂),则根据厂家说明书增加这些操作。

7.2.3 窝洞充填

按照随机分配的原则,每一试验周期至少使用试验材料充填 7 个窝洞,阴性对照材料充填 4 个窝洞。如有必要(见注),每一试验周期还应有 4 个阳性对照窝洞。

注:具有以前阳性对照数据库的实验室,不必再做阳性对照试验,除非有时需验证阳性反应。

7.2.4 术后观察和护理

建议术后每天至少观察动物状态一次,并记录异常表现。采取适当的措施将术后饮食习惯改变、炎症或感染引起的疼痛或痛苦降至最低。术后按需要给予止痛药。

7.3 切片制备

7.3.1 取材及固定

在 $7\text{ d}\pm 2\text{ d}$ 、 $28\text{ d}\pm 3\text{ d}$ 及 $70\text{ d}\pm 5\text{ d}$ ，用过量麻醉剂或其他广泛接受的物质处死足够数量的动物，以得到每个试验周期至少 7 颗牙齿含试验材料。检查充填体、牙齿及支持组织，记录任何异常现象。取下每一包含经处理的牙齿及其周围软硬支持组织的组织块，用适合的固定剂进行固定。

注：在处死动物切取组织块之前，用固定剂进行组织血管内灌注，固定效果更好。

7.3.2 切片及染色

固定后，用合适的脱钙剂[如 10% (体积分数) 甲酸或 pH7.4 的 0.5 mol/L EDTA 液]对牙齿脱钙。制备连续切片。通过牙齿窝洞沿牙齿长轴进行切片，厚 $5\ \mu\text{m}\sim 7\ \mu\text{m}$ 。苏木精—伊红(HE)染色，必要时用合适的细菌染色方法(如 Brown 和 Brenn)或其他检验细菌的方法间隔取片染色。

7.4 牙本质及牙髓评价

盲法检查切片(事先不知是试验样本或对照样本)。对每一连续切片，全面描述并记录牙本质、牙髓及根尖周组织的全部组织学特点，包括任何可能由窝洞制备所引起的组织学变化。从连续切片中，通过窝洞等间距的选择至少 5 张切片分析炎症情况。根据表 1 对表层牙髓组织(包括成牙本质细胞层、无细胞区及富细胞区)及剩余牙髓组织(深层组织)的炎症浸润进行分级。

表 1 牙髓牙本质应用试验分级标准

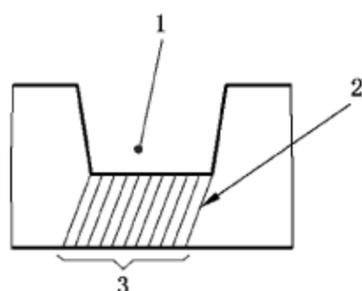
炎症分级	炎症变化描述
0	无炎症：通过牙本质小管与洞底相邻的牙髓组织结构正常
1	轻度炎症：通过牙本质小管与洞底相邻的牙髓组织结构正常、散在分布炎症细胞
2	中度炎症：通过牙本质小管与洞底相邻的牙髓组织正常结构仍存在，存在小的炎症细胞聚集病灶
3	重度炎症：通过牙本质小管与洞底相邻的牙髓组织结构丧失，炎症细胞广泛浸润
4	脓肿形成或广泛炎症细胞浸润至与窝洞底牙本质小管相邻的牙髓组织以外的组织区

评价每一切片时，记录剩余牙本质的最小厚度，包括从垂直角度测量洞底至牙髓-(前期)牙本质界面的距离以及沿牙本质小管走行方向测量的距离。后者是指，当切片平面与牙本质小管走行不完全一致时，即该区域的每个牙本质小管未能从洞底全程延伸到牙髓-(前期)牙本质界面，应沿牙本质小管走行的大致方向进行测量。计算每一试验周期的炎症反应指数，即将各切片所得分级的分数相加之后除以所观察的总切片数。

试验数据要分别列出试验材料(包括厂家推荐使用的衬洞材料和窝洞处理剂)、阴性对照和阳性对照的结果。用阳性对照材料充填的窝洞，可以采用此前在相同试验条件下的数据。此外，记录每一试验周期试验材料和对照材料有细菌的窝洞底或侧壁的数目。基于上述分级标准，以及可测量的剩余牙本质最小厚度范围和观测到的细菌微渗漏数目判定每一试验周期试验材料的炎症反应指数。

7.5 成牙本质细胞存活分析(选做)

对于成牙本质细胞存活的组织形态分析，选择至少 5 张沿窝洞底等间距分布的切片，H-E 染色，选用可以区别细胞并能够看到整个窝洞下方牙髓-(前期)牙本质界面的放大倍数进行观察。使用细胞计数器，计算整个洞底牙髓-(前期)牙本质界面长度内单位长度所含形态完整的成牙本质细胞数目。这一界面是指与窝洞底之间通过牙本质小管贯通的位置，如图 1 所示。



说明：

- 1——窝洞；
- 2——牙本质小管；
- 3——计算成牙本质细胞数目的牙髓-(前期)牙本质界面位置。

图 1 计算成牙本质细胞数目的牙髓-(前期)牙本质界面位置

读取每张切片沿洞底牙髓-(前期)牙本质界面单位长度所含有的成牙本质细胞数目,每个试样样本读取五个切片,然后计算该窝洞的平均细胞数。计算所有试验组以及阴性对照组窝洞的平均细胞计数 T 和 NC。根据下列公式计算细胞死亡的百分率：

$$CD = [(NC - T) / NC] \times 100 \dots\dots\dots(1)$$

式中：

- CD —— 细胞死亡率；
- NC —— 阴性对照组窝洞的细胞计数；
- T —— 试验材料窝洞的细胞计数。

按表 2 中对成牙本质细胞死亡率进行分级。

表 2 成牙本质细胞死亡率分级

分级	成牙本质细胞死亡情况
0	无死亡细胞
1	细胞死亡率 < 25%
2	细胞死亡率在 25%~50%
3	细胞死亡率在 50%~75%
4	细胞死亡率 > 75%

如前所述,对每一切片分级时,记录剩余牙本质的最小厚度。根据上述分级,并参考该组材料窝洞的剩余牙本质的最小厚度的范围,评价每种材料的成牙本质细胞存活指数。数据中应分别列出试验材料(包括采用厂家推荐的衬洞材料和窝洞处理剂)和阳性对照的结果。阳性对照组试验结果的表达应像上述试验窝洞一样,以阴性对照组的百分率进行描述。若适用,阳性对照数据可从此前的研究中获得,只要试验条件与现在的研究一致。

8 结果评价

试验中的所有信息在评价结果时均应考虑,尤其是试验与对照组间结果的任何差异。在试验报告中记录评价结果。

9 试验报告

试验结果应记录在试验报告中,报告中应包含所采取操作步骤的完整记录,所得结果以及任何其他有助于结果评价所需的数据。试验材料的准备及使用方法的详细记录以及材料的批号也应包括在报告中。

中华人民共和国医药
行业标准
口腔医疗器械生物学评价
第7部分：牙髓牙本质应用试验
YY/T 0127.7—2017

*

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.org.cn

服务热线：400-168-0010

2017年11月第一版

*

书号：155066·2-31590

版权专有 侵权必究



YY/T 0127.7-2017